

DOTTORATO DI RICERCA

Odontoiatria per Disabili

Ciclo XXI

MED/28 MALATTIE ODONTOSTOMATOLOGICHE

**RIABILITAZIONE PROTESICA ED
IMPLANTO-PROTESICA DI PAZIENTI IN
ETA' EVOLUTIVA AFFETTI DA DISPLASIA
ECTODERMICA**

Presentata da: Dott. Marco Montanari

Coordinatore del Dottorato:

Relatore:

Prof.ssa Gabriela Piana

Prof.ssa Gabriela Piana

INDICE

INTRODUZIONE.....	4
CAPITOLO 1.....	6
Sindrome della Displasia Ectodermica (E.D.s)	6
Genetica	6
Displasia Ectodermica causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nella segnalazione tra cellule	6
Displasia Ectodermica causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nell'adesione intercellulare	11
Displasia Ectodermica provocata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nella regolazione della trascrizione	12
Displasia Ectodermica provocata da mutazioni in altri geni	13
Mutazioni nel topo Tabby	17
Classificazioni	23
Classificazione di Freire-Maia e Pinheiro	23
Classificazione di Priolo e Laganà	25
Classificazione di Lamartine	28
Manifestazioni cliniche delle Displasie Ectodermiche	31
Diagnosi	42
CAPITOLO 2.....	47
Trattamento dei pazienti affetti da E.D.s	47
Protesi fissa	51
Protesi rimovibile	53
Ortodonzia	57
Protesi implantare	58
La crescita mandibolare e l'inserimento di impianti	60
La crescita mascellare e l'inserimento di impianti	61
Età in cui inserire gli impianti	61
Problematiche legate a un inserimento impiantare troppo precoce	64
Raccomandazioni per l'inserimento di impianti in pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica:	66
CAPITOLO 3.....	67
Obiettivo dello Studio	67
CAPITOLO 4.....	68
Materiali e Metodi	68

Linee guida per la riabilitazione con protesi mobili utilizzate presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili.	68
Protocollo operativo	68
Esame obiettivo	68
Documentazione fotografica	69
Esecuzione e valutazione delle ortopantomografie	69
Impronte in alginato	70
Impronte definitive	71
Registrazione dei rapporti intermascellari	72
Prova di montaggio dei denti del gruppo frontale	73
Prova di montaggio dei denti diatorici	74
Finalizzazione del manufatto protesico e valutazione dei contatti occlusali	74
Consegna delle protesi al paziente	76
Follow-up e ribasature con resina morbida	77
Inserimento delle viti di espansione	78
Esecuzione della teleradiografia	79
Primo appuntamento:	81
Secondo appuntamento:	81
Terzo appuntamento:	82
Quarto appuntamento:	82
Quinto appuntamento:	82
Terapia ortopedica e di aggiornamento:	82
Valutazione della crescita di pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica	82
Tipologia di pazienti	82
Gruppo sperimentale	83
Gruppo di controllo	83
Protocollo utilizzato nello studio	83
Analisi delle vertebre cervicali	84
Realizzazione del tracciato cefalometrico	85
Calcolo di media e deviazione standard	90
Analisi statistica	90
Protocollo di ricerca	91
Utilizzo di impianti di diametro ridotto per la riabilitazione di pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica	91
Promotore della Ricerca	92
Sede della sperimentazione	92
Disegno dello studio	93
Descrizione impianti	93
Numero di casi	93
Durata dello studio	93
Criteri di inclusione dei pazienti:	94
Criteri di esclusione dei pazienti:	94

Registrazione del paziente	94
Documentazione preoperatoria	94
Valutazione spessore della cresta ossea	95
Realizzazione del modello stereolitografico	97
Impronte in alginato e definitive	98
Simulazione dell'intervento su modello stereolitografico	98
Tecnica operatoria	100
Scopertura degli impianti	103
Presa delle impronte	103
Protocollo Odontotecnico	104
Realizzazione della guida di espansione	105
Follow-up	107
Valutazione della Sicurezza	107
Analisi dei dati	107
 CAPITOLO 5.....	 108
Risultati	108
Presentazione dei casi clinici	108
 CAPITOLO 6.....	 123
Discussione	123
 CAPITOLO 7.....	 128
Conclusioni	128
 BIBLIOGRAFIA.....	 131

INTRODUZIONE

Per Sindrome della Displasia Ectodermica (E.D.s), si intende un ampio numero di malattie genetiche caratterizzate da anomalo sviluppo di due o più strutture di origine ectodermica (cute, capelli, peli, denti, unghie, ghiandole sudoripare, ghiandole sebacee, parti dell'occhio e dell'orecchio interno) (Baskan et al., 2006). Possono essere coinvolti anche tessuti di origine mesodermica (Pinhero et al., 2000).

Negli ultimi anni sono state diagnosticate e catalogate come E.D.s. circa 200 condizioni cliniche differenti e tutte presentano delle anomalie comuni a livello dei derivati ectodermici.

Dal momento che la malattia può interessare tutti gli organi che si sviluppano dal foglietto embrionale esterno, le manifestazioni cliniche sono molteplici. Inoltre, considerando che durante il periodo embrionale endoderma, mesoderma ed ectoderma interagiscono tra loro, possono verificarsi un ampio range di anomalie causate da mutazione o da alterazione di geni codificanti proteine fondamentali per lo sviluppo.

Queste patologie possono essere ereditate attraverso tutte le modalità di trasmissione Mendeliana. Si possono riconoscere forme autosomico-recessive, forme autosomico-dominanti e forme legate al cromosoma X (recessive o dominanti) (Priolo et al., 2000).

In base al funzionamento delle ghiandole sudoripare, si possono riconoscere 3 gruppi fondamentali: ***Ipoidrotica*** (presenza di poche ghiandole sudoripare), ***Anidrotica*** (assenza completa di ghiandole sudoripare) e ***Idrotica*** (normale sviluppo delle ghiandole sudoripare). Il tipo più comune è rappresentato dalla forma Ipoidrotica, conosciuta anche come sindrome di Christ-Siemens-Touraine e caratterizzata dalla triade sintomatologica: ipoidrosi, ipotricosi e oligo-anodonzia (Geza et al., 2003; Clarke, 1987; Vieurucci et al., 1994).

La prima descrizione della Sindrome risale al 1793 quando Danz descrisse due ragazzi caratterizzati dall'assenza congenita di capelli e denti; in seguito Darwin nel 1875 pubblicò, sul libro "The Variations of Animals and Plants under Domestication" (Darwin, 1875), la descrizione di una famiglia indiana con dieci componenti maschi che presentavano i segni clinici della malattia; Weech nel 1923 definì questa patologia ***Displasia Ectodermica***, riconoscendone il grande polimorfismo.

Nel 1970, il gene coinvolto nella Displasia Ectodermica Anidrotica è stato il primo ad essere mappato a livello del cromosoma X.

Per quanto riguarda la prevalenza della sindrome, questa risulta esser stimata, secondo i vari Autori, tra 1 su 10000 e 1 su 100000 nati vivi (Baskan et., 2006; Buyse, 1990). Secondo l'Associazione Nazionale Displasia Ectodermica (**A.N.D.E.**), la Displasia Ectodermica Ipoidrotica associata al cromosoma X è la forma più comune, con una incidenza di 1 su 100000 nati vivi che aumenta fino a 7 su 10000 a livello internazionale considerando tutte le circa 200 forme conosciute.

La penetranza è molto variabile: gli individui affetti possono presentare solo alcune caratteristiche oppure tutte e la severità del quadro sintomatologico è estremamente eterogenea (Pinhero et al., 1994).

CAPITOLO 1

Sindrome della Displasia Ectodermica (E.D.s)

Genetica

Negli ultimi anni, sono state identificate le basi molecolari delle più frequenti Displasie Ectodermiche che coinvolgono geni implicati nella morfogenesi epiteliale, nella comunicazione, segnalazione e adesione tra cellule, nella regolazione della sopravvivenza, della proliferazione e dello sviluppo cellulare (Lamartine, 2003; Giannetti et al, 2003). Malgrado il grande numero di ED esistenti, meno di 30 sono state descritte a livello molecolare tramite identificazione dei geni causali.

Le Displasie Ectodermiche possono essere ereditate mediante trasmissione autosomica recessiva, autosomica dominante o legata al cromosoma X (recessiva, dominante).

Lo sviluppo dei derivati ectodermici è regolato da una sequenza di interazioni induttive tra due strati tissutali adiacenti, l'epitelio ed il mesenchima (Mikkola, 2003). Recenti evidenze implicano l'intervento di un difetto genetico nei differenti meccanismi che regolano l'organogenesi dei tessuti ectodermici. L'embriogenesi è regolata da un certo numero di meccanismi di segnalazione a cascata che sono critici per il normale sviluppo.

Sulla base della classificazione di Priolo e Laganà (2000) e delle recenti scoperte molecolari, è possibile spiegare la funzione dei geni che si è riscontrato essere alterati nelle varie forme di Displasia Ectodermica.

Displasia Ectodermica causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nella segnalazione tra cellule

La sindrome di Christ-Siemens-Touraine è un disordine legato al cromosoma X e rappresenta la forma più comune di Displasia Ectodermica.

La malattia, nella maggior parte dei casi, è trasmessa con modalità recessiva legata al cromosoma X. Presenta, pertanto, penetranza ed espressività complete solo nel maschio, al quale viene trasmessa dalla madre portatrice che, solitamente, non presenta alcun segno (Ulusu et al., 1990). Le figlie femmine sono generalmente portatrici sane o presentano manifestazioni cliniche minori. L'esistenza di forme di Displasia Ectodermica Ipoidrotica

autosomiche recessive e dominanti, caratterizzate da un fenotipo indistinguibile da quello della forma legata all'X, è stata a lungo discussa e i casi di soggetti di sesso femminile che presentavano quadri clinici conclamati, sono stati attribuiti dai vari Autori ad un pattern di inattivazione non casuale del cromosoma X e, quindi, ad un'inattivazione selettiva del cromosoma X portante l'allele normale. Quest'interpretazione non tiene tuttavia conto dei diversi modelli murini naturali di Displasia Ectodermica Ipoidrotica noti, in cui fenotipi identici sono dovuti a mutazioni in loci situati sul cromosoma X (topo Tabby) o autosomici (topi downless, crinkled e sleek) (Munuz et al., 1997). Risulta oggi, pertanto, ampiamente dimostrata l'esistenza di forme di Displasia Ectodermica ad eredità autosomica dominante o recessiva. Nelle forme autosomiche recessive il disordine è espresso in maniera completa sia nei maschi che nelle femmine (Nordgarden et al., 2001).

Nel 1996 è stato clonato il gene, denominato ED1 e localizzato a livello Xq12-q13.1 del cromosoma X, responsabile della forma recessiva di Displasia Ectodermica Ipoidrotica (X-linked) (Kere et al., 1996). Anche grazie a studi condotti sul topo Tabby, il cui fenotipo è dovuto a mutazioni nell'omologo murino di ED1, è stato dimostrato che ED1 codifica per l'ectodisplasina (EDA), una proteina transmembrana di tipo collagenico (II) formata da 135 aminoacidi, che si trova espressa a livello di cheratinociti, follicoli piliferi e ghiandole sudoripare (Hertz et al., 1998). Il gene ED1 è costituito da 12 esoni, 8 dei quali sono responsabili della codifica della proteina EDA, che è coinvolta nello sviluppo dell'ectoderma e nelle interazioni ectoderma-mesenchima. La mutazione responsabile di Displasia Ectodermica sembra attribuibile ad una sostituzione istidina/tirosina in posizione 54 di tale proteina; un'altra mutazione (A1270G) si è rivelata responsabile della sostituzione Tyr343Cys in un paziente con Displasia Ectodermica Anidrotica (Kobielak et al., 2003). Le due isoforme principali di questa proteina, l'ectodisplasina A-1 e l'ectodisplasina A-2 (EDA-A1 e EDA-A2), differiscono solo per l'inserzione di due aminoacidi. EDA-A1 e EDA-A2 contengono, nella porzione extracellulare, una componente collagenica che forma una tripla elica e spiega la natura omotrimerica di queste proteine ed un dominio carbossiterminale in omologia con membri della famiglia del tumour necrosis factor (TNF). Il gene ED1 è espresso a livello di capelli, peli, cheratinociti, ghiandole sudoripare e, almeno nel feto, nelle cellule del timo e del neuroectoderma. Sono stati riscontrati differenti tipi di mutazioni (missenso, nonsense e delezioni) a carico di EDA, la cui esatta funzione non è conosciuta, ma sembra essere

coinvolta nei meccanismi di trasduzione del segnale e di adesione intercellulare, forse in relazione con il meccanismo di segnalazione della E-caderina.

Durante lo sviluppo embrionario, EDA è precocemente espressa ad alti livelli nell'epidermide, negli abbozzi degli annessi piliferi e dei denti e, inoltre, esperimenti di transfezione in vitro hanno evidenziato che la proteina colocalizza con strutture del citoscheletro lungo le superfici laterali e apicali delle cellule. EDA viene clivata dalla membrana cellulare attraverso un meccanismo di proteolisi mediata da una serin-proteasi tipo furina, che porta alla produzione di una proteina collagenica trimerica solubile (Ezer et al., 1999; Chen et al., 2001). L'insieme di questi dati ha portato alla conclusione che l'ectodisplasina appartiene alla superfamiglia del TNF ed è implicata nell'interazione epitelio-mesenchimale durante l'embriogenesi, in particolare nella morfogenesi degli annessi cutanei e degli abbozzi dentari.

Tre anni dopo l'identificazione delle mutazioni a carico del gene EDA in pazienti affetti da Displasia Ectodermica Ipoidrotica, è stato clonato il gene mutato nel topo downless ed è stato dimostrato che mutazioni nel corrispondente gene umano, DL o EDAR, sono responsabili di forme autosomiche dominanti o recessive di Displasia Ectodermica Ipoidrotica (Monreal et., 1999). EDA risulta, quindi, mutata nelle forme di E.D. legate al cromosoma X, mentre il gene EDAR risulta mutato nelle forme di E.D. di tipo autosomico dominante e in alcuni pazienti con una forma di E.D. di tipo autosomico recessivo. EDA-A1 e EDAR sono due membri della famiglia del tumour necrosis factor-like (TNF-like) e della superfamiglia del tumour necrosis factor receptor (TNFR), rispettivamente. Il gene EDAR ("EDA receptor"), localizzato a livello 2q11-q13, codifica, infatti, per una proteina che appartiene alla superfamiglia dei recettori del TNF e lega specificatamente EDA-A1; il legame EDA-A1/EDAR forma un complesso ligando-recettore fondamentale per la cascata di segnalazioni necessaria per il normale sviluppo dei derivati ectodermici. Le proteine TNF-like risultano criticamente coinvolte nella sopravvivenza cellulare e nell'apoptosi.

Un altro gene, denominato XEDAR e clonato ancora più recentemente, lega EDA-A2 ma non EDA-A1. Entrambi i recettori (EDAR e XEDAR), contengono un "death domain" citoplasmatico: il legame di EDA-A1 e di EDA-A2, rispettivamente con EDAR e XEDAR, comporta l'attivazione di questi recettori e, attraverso il reclutamento di una proteina adattatrice denominata EDARADD (da "EDAR associated death domain"), l'attivazione anche della via di trasduzione NEMO/NF-kB(22). NEMO (NF-kB essential modulator) regola

l'attività di NF- κ B come fattore di trascrizione che interviene nel controllo della stratificazione epiteliale e consente alle cellule di rispondere agli stimoli esterni. NEMO regola quindi i meccanismi di apoptosi, sopravvivenza e proliferazione cellulare in risposta a segnali, in particolare a quelli provenienti da membri della famiglia del TNF (tumour necrosis factor). Nelle forme di incontinentia pigmenti (IP) sono state trovate cellule caratterizzate da estrema suscettibilità all'apoptosi, mentre clinicamente i pazienti presentano un'anomala risposta immunitaria. Mutazioni a carico dell'esone 10 del gene NEMO sono responsabili di un'altra forma di E.D. legata al cromosoma X con immunodeficienza (EDA-ID). NEMO è mutato anche in pazienti affetti da EDA-ID con linfedema (OL-EDA-ID). Pazienti affetti da EDA-ID presentano mutazioni a carico della regione che codifica per il gene NEMO, che probabilmente esercitano un effetto più mite rispetto a quello provocato da un'interruzione del codone, che caratterizza, invece, la forma OL-EDA-ID; ciò spiega le caratteristiche fenotipiche più accentuate di questi ultimi pazienti. Nei pazienti affetti da EDA-ID, inoltre, sembra esistere una residua attività del complesso EDA-A1/DL e questo contribuisce a rendere meno accentuate le caratteristiche fenotipiche. Il gene NEMO risulta mutato anche in una peculiare Displasia Ectodermica Ipoidrotica con immunodeficienza. Sulla base di questi risultati, NEMO può essere ragionevolmente considerato come responsabile di altre E.D.s. con immunodeficienza, come la onycho-tricho dysplasia con neutropenia. E' importante sottolineare che, mentre EDAR ha un ruolo morfogenetico, l'induzione di apoptosi è una tra le principali funzioni della maggioranza degli altri recettori della superfamiglia del TNF che contengono un "death domain" e che utilizzano Tradd e Fadd come proteine adattatrici comuni.

La recente identificazione di una mutazione in edaradd nel topo crinkled ed in EDARADD in una famiglia affetta da Displasia Ectodermica Ipoidrotica ha verosimilmente completato il quadro dei difetti molecolari alla base di questa malattia (Headon et al., 2001).

Oggi, quindi, l'eterogeneità genetica della Displasia Ectodermica Ipoidrotica e la sua trasmissione –legata all'X o autosomica- è chiaramente dimostrata e spiegata: la malattia può essere dovuta a mutazioni in uno o più geni (EDA, EDAR, EDARADD), localizzati rispettivamente sui cromosomi X, 2, 1, oppure a mutazioni a carico di NEMO. Queste mutazioni sono responsabili di Displasia Ectodermica Ipoidrotica con o senza immunodeficienza. Inoltre, i dati disponibili sulla struttura e funzione delle proteine codificate

da EDA, EDAR e EDARADD rendono ragione del fenotipo comune risultante da mutazioni in uno qualsiasi di questi geni (Giannetti et al., 2003).

A tutt'oggi, 85 diverse mutazioni a carico del gene ED1 sono state identificate.

Altre proteine importanti per la segnalazione tra cellule, in quanto responsabili della formazione di gap-junction (proteine coinvolte nella cooperazione tra cellule, nel controllo della crescita cellulare e nella regolazione dello sviluppo) sono le connesine, che si sono mostrate implicate nello sviluppo di alcune forme di Displasia Ectodermica.

La Displasia Ectodermica Idrotica, o sindrome di Clouston, è una rara patologia ad eredità autosomica dominante che sembra essere provocata da differenti mutazioni missenso a carico del gene GJB6, che codifica per la connessina-30 (CX-30)(26,27). E' caratterizzata da ipotricosi generalizzata, distrofia ungueale e ipercheratosi palmo-plantare. Il sito specifico di questa forma di ED è stato mappato attraverso il linkaggio della regione pericentromerica del cromosoma 13q e l'analisi di famiglie con tale patologia ha consentito l'identificazione della regione candidata in un intervallo posto tra D13S1828 a livello prossimale e D13S1830 a livello distale. La ricostruzione di tale regione cromosomica ha consentito la mappatura di 15 geni tra cui GJB6 e GJB2. GJB2 codifica per la connessina-26; mutazioni a carico di questo gene sembrano essere responsabili della sindrome "*ectodermal dysplasia keratitis-ichthyosis-deafness*" (*KID*), caratterizzata da placche ipercheratosiche con sottostante eritema, che mostra tendenza alla risoluzione spontanea (Richard et al., 2002), frequente riduzione o perdita dell'udito e cheratite vascolare. Quest'ultima presenta un decorso progressivo, in quanto si manifesta inizialmente con fotofobia, per poi sfociare nella totale cecità. Pazienti affetti da tale sindrome mostrano un'incidenza piuttosto elevata di carcinoma squamocellulare cutaneo. Una mutazione missenso a livello di GJB3 è stata osservata nella "eritrocheratoderma variabile" (EKV). La questione centrale è il coinvolgimento di CX-30 in due differenti patologie: sordità di origine autosomica dominante non sindromica e Displasia Ectodermica. Mutazioni a livello di GJB3 sono, allo stesso modo, responsabili sia di EKV che di disabilità uditiva di origine autosomica dominante. Si può, pertanto, supporre, che le mutazioni individuate nei pazienti ED interessino una funzione delle connesine specifica per l'epidermide e che, le varie connesine espresse nei cheratinociti, non compensano l'effetto di CX-30 mutato. D'altro lato, invece, altre connesine a livello delle cellule uditive, sono capaci di compensare questo effetto (Lamartine et al. 2000).

Displasia Ectodermica causata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nell'adesione intercellulare

Le giunzioni “cell to cell” sono formate da proteine desmosomiali. Una proteina, la Placofillina 1 (PKP1), ha un ruolo fondamentale nel meccanismo di adesione cellulare e mantiene la stabilità del compartimento membrana cellulare-citoscheletro. Nei pazienti affetti da E.D.s. con associata fragilità cutanea (ereditata con modalità autosomico recessiva), in cui tale proteina risulta alterata, si può osservare un difetto nell'interazione tra cellule ed un'anormale distribuzione dei filamenti di cheratina, che risultano disorganizzati e non partecipano alla formazione del citoscheletro. I pazienti presentano reiterata formazione di bolle nelle regioni cutanee esposte ad insulti meccanici, capelli radi, distrofia ungueale e ridotta sudorazione (Mc Grath et al., 1997). Grazie a queste conoscenze, risulta oggi possibile effettuare una diagnosi prenatale di mutazioni eterozigoti che conducono alla perdita della placofillina-1.

Alcuni Autori hanno dimostrato che l'ipotricosi associata a degenerazione maculare giovanile è provocata da una mutazione in CDH3, che codifica per la P-caderina (Sprecher et al. 2001). In uno studio successivo, gli stessi Autori hanno riscontrato che, individui affetti appartenenti a due famiglie apparentemente non imparentate di origine araba-israeliana presentavano la stessa mutazione missenso omozigote (R503H) nell'esone 11 del gene CDH3. Questa mutazione altera il sito di legame di Ca^{2+} a livello del quarto dominio extracellulare della P-caderina (Indelman et al., 2003).

“Margarita Island Ectodermal Dysplasia” (ED4), è un disordine autosomico recessivo caratterizzato da anomalia facciale e dentale, ipotricosi, ipercheratosi palmo-plantare, displasia ungueale, sindattilia e labio-palato schisi. Il gene PVRL1 (Poliovirus receptor gene), che codifica per la nectina-1, (molecola di adesione transmembrana immunoglobulina relata), fa parte del sistema di adesione cellulare NAP e si è dimostrato essere alterato in tale sindrome. La nectina-1 è anche il principale recettore superficiale per gli alfa-herpes virus (Suzuki et al., 2000). Il sistema NAP ha un ruolo centrale nel mantenimento della stabilità e dell'integrità della membrana cellulare e del citoscheletro e del possibile legame di questi e della pectina al sistema caderina-catenina. La nectina 1 ha un ruolo primario nel dare avvio ad una cascata di segnalazione intracellulare che regola l'interazione cellula-cellula, la morfologia cellulare e la disposizione e organizzazione della membrana plasmatica.

Displasia Ectodermica provocata da mutazioni nei geni che codificano per proteine coinvolte nella regolazione della trascrizione

Diversi geni, importanti nel meccanismo di regolazione della trascrizione, sono coinvolti in alcune forme di Displasia Ectodermica. P63 è un fattore di trascrizione strutturalmente correlato all'oncosoppressore p53. Mentre p53 è ubiquitariamente espresso, p63 è espresso specificatamente nell'ectoderma embrionale e nello strato basale del tessuto epiteliale dell'adulto.

Numerose sindromi umane ad eredità dominante sono state mappate a livello del cromosoma 3q27 e sono causate da mutazioni nel gene p63. La famiglia di patologie legate ad alterazioni di p63 include le sindromi ***“ectodermal-dysplasia, ectrodactyly, cleft lip-palate” (EEC)***, ***“ankyloblepharon ectodermal-dysplasia clefting” (AEC)***, ***“acro-dermato-ungual-lacrima-tooth” (ADULT)***, ***“limb-mammary” (LMS)*** e malformazioni non sindromiche di mani e piedi (SHFM)(Itin et al., 2004).

La sindrome di ***“Ellis-Van Crefeld”*** è una rara displasia scheletrica autosomica recessiva caratterizzata da polidattilia, unghie ipoplasiche, capelli fini, alterazioni dentarie e frequenti anomalie cardiache congenite. Il gene responsabile appartiene al gruppo di proteine con una potenziale attività di trascrizione (Ruiz-Perez et al., 2003).

“Trichothiodystrophy” (TTD) è un gruppo eterogeneo di disordini autosomici recessivi caratterizzato, ad esempio, dalla presenza di capelli fragili e radi. Tali sindromi mostrano una sintesi difettosa delle proteine della matrice contenenti residui SH. In circa metà dei pazienti si riscontrano anomalie nel processo di riparazione del DNA danneggiato dai raggi ultravioletti. Molti pazienti mostrano mutazioni nei due alleli del gene XPD. Raramente risulta mutato il gene XPB o un non-identificato gene TTD-4. Nei pazienti fotosensibili, il fattore di trascrizione TFIIH, contenente le subunità XPB e XPD con attività di elicasi, necessario sia per l'inizio della trascrizione che per la riparazione del DNA, risulta danneggiato.

La ridotta sintesi dell'RNA può essere responsabile di alcune caratteristiche cliniche quali il ritardo nella crescita e anomalie neurologiche.

La sindrome ***“Trichorhinophalangeal”*** è ereditata con modalità autosomica dominante e caratterizzata clinicamente da anomalie cranio-facciali, severa brachidattilia, capelli radi, labbro superiore sottile, filtro allungato e, talvolta, esostosi cartilaginee e ritardo di crescita.

La sindrome è provocata da un difetto nel fattore di trascrizione GATA che media la differenziazione cellulare in diversi tessuti (Itin et., 2004).

Recentemente, è stato dimostrato che Dlx3 è un bersaglio a valle di p63 e che la trascrizione di Dlx3 è abrogata da mutazioni nel dominio “sterile α -motif” (SAM) di p63 che sono associate alla sindrome “*ankiloblepharon-ectodermal dysplasia-clefting*” (AEC) ma non alle altre sindromi legate a p63. L’espressione di Dlx3 è stata individuata nei follicoli piliferi, denti, archi branchiali, osteoblasti ed epidermide. P63 è, normalmente, capace di legare e transattivare Dlx3 sia in vitro che in vivo, mentre proteine p63 mutanti mostrano una capacità compromessa di effettuare tale transattivazione. Il gene Dlx3 è, pertanto, regolato da p63 come parte di un meccanismo di regolazione della trascrizione rilevante per la patogenesi di specifiche E.D.s. (Akhyani et al., 2007).

Displasia Ectodermica provocata da mutazioni in altri geni

Geni responsabili di Displasia Ectodermica sono anche quelli che codificano per proteine elicasi, coinvolte nella replicazione e riparazione del DNA. Ad esempio, alcuni casi di sindrome di Rothmund-Thomson sono provocati da mutazioni nel gene RECQL4 il quale codifica, appunto, per tali proteine. Questo disordine è caratterizzato da atrofia cutanea, pigmentazione, teleangiectasia e, frequentemente, cataratta, naso a sella, difetti ossei, anomalie del capello e ipogonadismo (Wang et al., 2001).

La discheratosi congenita è un disordine genetico caratterizzato da pigmentazione reticolare, distrofia ungueale, leucoplachia delle membrane mucose e, in alcuni casi, lacrimazione continua dovuta ad atresia dei dotti lacrimali, pancitopenia e atrofia testicolare. La forma X-linked deriva da un’alterazione del gene DKC1, localizzato in regione q28 del cromosoma X, che codifica per la discherina, una proteina coinvolta sia nella funzione telomerasica che nella processazione dell’RNA ribosomiale, mentre la forma autosomica dominante è associata a mutazioni nel componente RNA della telomerasi, hTER C (Bessler et al., 2004).

Questi concetti di biologia ed embriologia cellulare funzionale, potranno consentire, in un prossimo futuro, una nuova classificazione delle Displasie Ectodermiche, sulla base della funzione dei geni mutati coinvolti (Itin et al., 2004).

Un recente studio (Mohri et al., 2008) dimostra la relazione esistente tra il gene Lgr4 e lo sviluppo dei follicoli piliferi nel topo. Lgr4 (Leucine-rich repeat containing G-protein coupled receptor 4) è uno dei geni, identificati come GPCRs, che mostra un’elevata omologia con

recettori di ormoni glicoproteici quali FSHR, LHR, THSR. In passato è stato evidenziato che la delezione di *Lgr4* provoca, nel topo, un anomalo sviluppo del rene, che appare ipoplasico, con associata un'aumentata concentrazione di creatinina plasmatica (Kato et al., 2006); era stato evidenziato l'importante ruolo di tale gene nello sviluppo post-natale dell'apparato riproduttivo maschile (Hoshii et al., 2007) ed era stato dimostrato che *Lgr4* è un regolatore della motilità dei cheratinociti nei tessuti palpebrali (in seguito alla sua delezione i topi presentano alla nascita gli occhi aperti, caratteristica associata, appunto, alla ridotta motilità dei cheratinociti (Kato et al., 2007). Gli Autori di questo studio osservano che la delezione di *Lgr4* causa un particolare fenotipo nel topo, caratterizzato dalla presenza di pochi peli a livello del capo e focale alopecia dietro alle orecchie. (**Fig.1**)

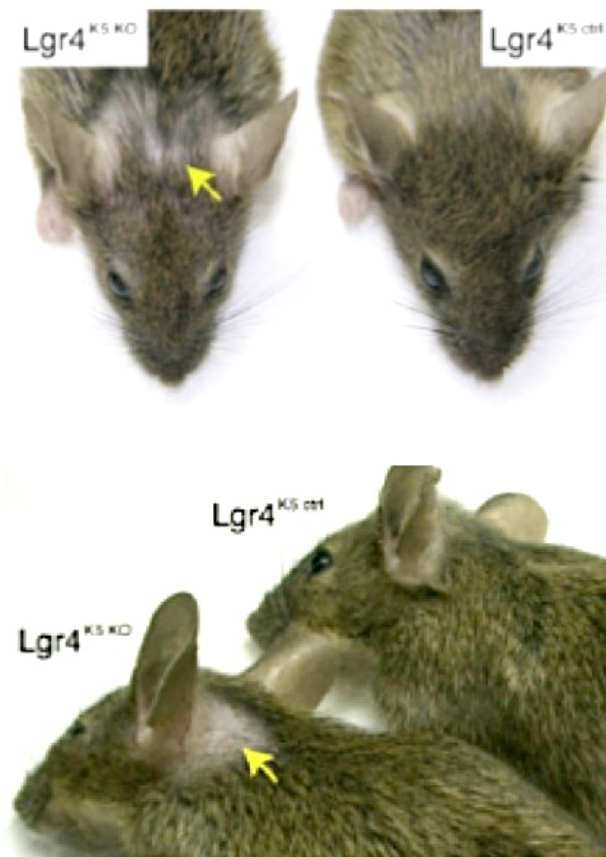


Fig.1-Topi Lgr4k5 ko (knok out), a sinistra e topi Lgr4k5 ctrl (controlli), a destra, a sei settimane. I primi mostrano focale alopecia.

Tale fenotipo risulta simile a quello osservato nei topi Tabby (*Eda*) e downless (*Edar*), che sono considerati modelli patofisiologici di Displasia Ectodermica Ipoidrotica e Anidrotica nell'uomo. E' stata descritta, per la prima volta, la funzione di *Lgr4* nel controllo dello sviluppo dei follicoli piliferi. L'esame istologico di frammenti di cute prelevata dal cranio di

topi di 7 giorni mostra chiaramente, negli animali con delezione di *Lgr4*, l'anomala struttura dei follicoli piliferi, risultato che sostiene fortemente il ruolo di tale gene nello sviluppo corretto dei follicoli stessi (**Fig.2**). Nel gruppo di controllo è stata osservata l'espressione di *Lgr4* nell'epidermide e nei follicoli piliferi del topo mediante analisi della reazione a catena trascrittasi inversa-polimerasi (RT-PCR), dato confermato dai risultati della tecnica di ibridizzazione in situ (**Fig.3**).

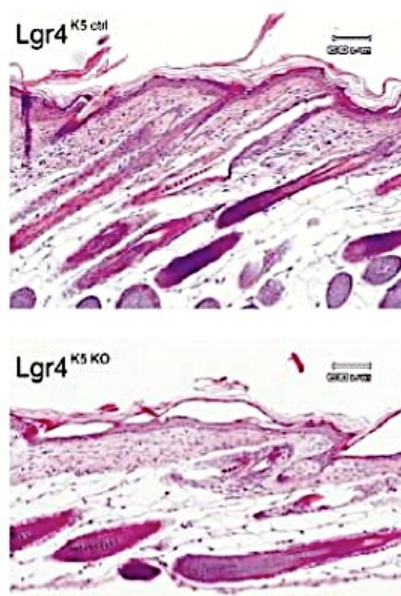


Fig.2- Anomala struttura dei follicoli piliferi nei topi $Lgr4^{K5\ KO}$.

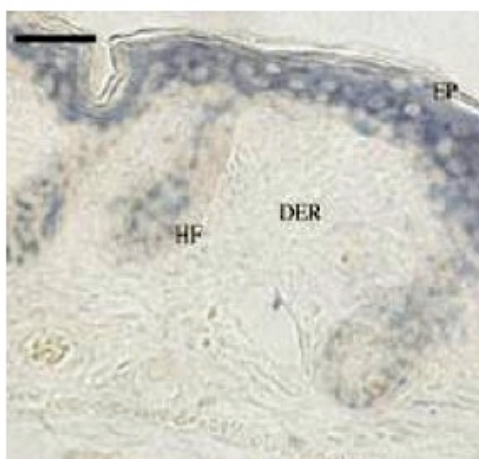


Fig.3- Ibridizzazione in situ nel gruppo controllo. EP, epidermis; DER, dermis; HF, hair follicle.

L'analisi dello sviluppo del follicolo pilifero nel topo al giorno embrionario 14.5 ha evidenziato una chiara differenza tra i topi *Lgr4*^{-/-} (autosomico recessivo, quindi malato) ed i

topi $Lgr4^{+/+}$ (autosomico dominante, quindi sano) mostrando, nel primo gruppo, una netta riduzione del numero di follicoli piliferi, che risultano solo il 25% di quelli presenti nel topo sano (**Fig.4**). Il risultato conferma che la delezione di $Lgr4$ nell'epidermide provoca un'anomala formazione dei follicoli piliferi.

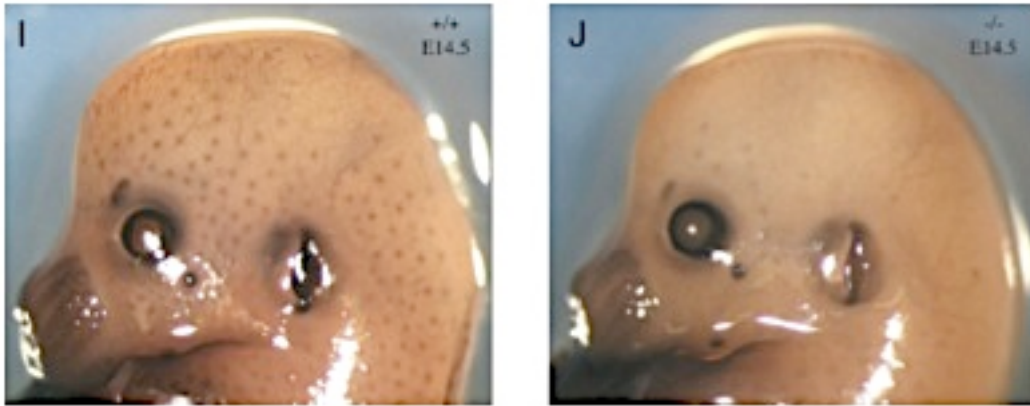


Fig.4 Sviluppo deficitario di follicoli piliferi in embrione di 14,5 giorni di topo $Lgr4^{-/-}$ (destra).

Si è inoltre osservato che molte molecole di segnalazione e loro inibitori, quali Wnts, Sonic Hedgehog (Shh), fibroblast growth factors (Fgfs), transforming growth factor- β s (Tgf- β s) superfamily, Ectodysplasin A (Eda) e il suo recettore (Edar), sono espressi a livello dei follicoli e del sottostante mesenchima e sembrano avere un ruolo importante nel processo di formazione dei follicoli piliferi (Schmidt et al., 2005). E' stato misurato il livello di espressione di questi geni nell' mRNA preparato dall'epidermide dei topi ed i trascritti di Edar e Shh si sono mostrati chiaramente ridotti in tutta l'epidermide dei topi $Lgr4^{-/-}$. Il segnale a valle di Eda/Edar è trasmesso attraverso la via di segnalazione di Shh, essenziale per il controllo dell'incremento e della morfogenesi dei follicoli piliferi; l'analisi immunohistochimica ha mostrato un' elevata espressione di Shh nei follicoli dei topi $Lgr4^{+/+}$, ma non altrettanto è stato riscontrato per i topi $Lgr4^{-/-}$. Fisiologicamente, per l'induzione dei follicoli piliferi è richiesta la soppressione del segnale delle proteine morfogenetiche dell'osso (mps). Gli Autori, pertanto, hanno valutato (utilizzando anticorpi attivi) il livello della forma fosforilata e attiva di Smad1/5/8 –molecole che mediano gli effetti delle Bpms-.

I risultati mostrano una maggiore fosforilazione di Smad 1/5/8 nei topi $Lgr4^{-/-}$, ulteriore conferma del ruolo di tale gene nella morfogenesi dei follicoli piliferi.

Mutazioni nel topo Tabby

La Displasia Ectodermica Ipoidrotica legata al cromosoma X umana sembra essere analoga alla sindrome tabby (TA) nel topo, a causa del fenotipo simile e della corrispondente posizione del gene mutato sul cromosoma X, dato confermato dalla clonazione genetica (Srivastava et al., 1997; Ferguson et al., 1997).

Il fenotipo del Tabby è caratterizzato dallo sviluppo deficitario di alcuni derivati ectodermici quali denti, peli e ghiandole. Gli organi colpiti possono presentare dimensioni ridotte o struttura anomala, oppure non essere affatto presenti.

Il follicolo pilifero mostra un tempo di sviluppo tardivo rispetto ai topi normali ed una composizione anomala; le ghiandole coinvolte possono essere più di venti e, tra queste, quelle particolarmente interessate sono le sudoripare, che risultano assenti, le lacrimali, che sono più piccole o non sviluppate e la sottomandibolare, che presenta un volume ridotto.

La Displasia Ectodermica Ipoidrotica X-linked è causata da alterazioni a carico della proteina ectodisplasina A(16,43), importante per lo sviluppo dei derivati ectodermici e per l'attivazione di NF- κ B, il quale definisce l'apoptosi, la sopravvivenza e la proliferazione cellulare in risposta a segnali provenienti da membri della famiglia del TNF (tumour necrosis factor). Topi con soppressione di NF- κ B vanno incontro ad una maggiore apoptosi dei follicoli piliferi in fase di sviluppo (Schmidt et al., 2001).

La dentatura del Tabby è caratterizzata da difetti congeniti nel numero di denti (frequente è la mancanza di incisivi e terzi molari, anche se con un grado di penetranza variabile), nella forma e nelle dimensioni (le cuspidi dei primi e secondi molari possono essere ridotte di dimensione e numero)(Sofaer, 1969, Gruneberg, 1996). La dentatura della regione posteriore della mandibola è quella che mostra il maggiore grado di variabilità (Gruneberg, 1996) e può essere suddivisa in 2 morfotipi di base, I e II, a loro volta suddivisi in 3 (Ia, Ib, Ic) e 2 (IIa, IIb) sottotipi rispettivamente (Kristenova et al., 2002; Peterkova et al., 2002). I differenti morfotipi derivano da un difetto nella segmentazione dell'epitelio dentale lungo l'asse mandibolare mesio-distale (Boran et al., 2005). La **Fig.5**, è una rappresentazione schematica dei denti primordiali della regione posteriore della mandibola nei feti di topo wild-type (WT) e di topo Tabby (Ta). M1, M2 e M3 rappresentano il primo, secondo e terzo molare nel topo WT; T1, T2 e T3 rappresentano i rispettivi primo, secondo e terzo dente funzionale nei differenti sottotipi del morfotipo I (Ia, Ib, Ic) e II (IIa, IIb), del topo Ta. Si osserva la riduzione

di volume della porzione più mesiale dei denti primordiali dal sottotipo Ia al sottotipo IIb, associata ad un incremento di volume dei denti primordiali successivi e ad uno spostamento in direzione mesiale dei margini dei denti in paragone ai topi WT. I denti primordiali abortivi (linea tratteggiata), rappresentano un cappuccio abortivo (* *) nel sottotipo IIa e una gemma abortiva nel sottotipo IIb (*). I denti primordiali abortivi non danno origine ad un dente funzionale. Il primo dente funzionale (T1) nel morfotipo II è, in realtà, il secondo dente primordiale. La morfologia di T1 nel morfotipo II è, pertanto, simile a quella di T2 nel morfotipo I (Peterkova et al., 2002).

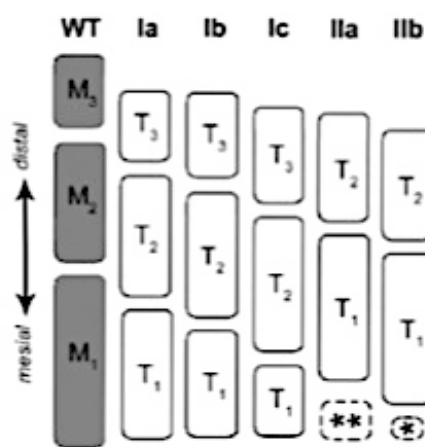


Fig.5-Rappresentazione schematica dei denti molari mandibolari nei feti di topi WT e Ta.

Durante la normale odontogenesi del topo l'apoptosi interviene nel ridurre il numero di denti primordiali nell'embrione, nella morfogenesi del dente e nella delimitazione del margine mesiale dell'organo dello smalto del primo molare (Matalova et al., 2004; Viriot et al., 2000). Il topo è uno dei più frequenti modelli utilizzati per studiare i meccanismi coinvolti nella regolazione della morfogenesi degli organi, tra cui l'odontogenesi. Una combinazione di analisi istologiche, morfometriche e di ricostruzioni tridimensionali computerizzate (Peterkova et al., 1995), dimostrano l'esistenza di strutture dentali rudimentali, la cui graduale comparsa e regressione è associata con la progressione segmentale dell'odontogenesi lungo l'asse mesio-distale della mandibola:

1) il segmento mesiale (MS) (fase di gemma), al giorno embrionario 12.5, rappresenta la parte più prominente dell'invaginazione dell'epitelio dentale; il segmento mesiale, che generalmente viene scambiato per il primo molare primordiale (M1), regredisce e non partecipa alla fase di cappuccio di M1;

- 2) una larga gemma dentale (chiamata segmento R2), al giorno embrionario 13.5, appare distalmente al segmento mesiale; il segmento R2, sebbene rappresenti la porzione predominante dell'epitelio dentale al giorno embrionario 13.5, partecipa solo alla formazione del margine mesiale del cappuccio di M1;
- 3) il segmento centrale del cappuccio di M1, così come il nodo dello smalto, si sviluppano lateralmente e distalmente al segmento R2.
- 4) specifiche apoptosi sono correlate con il ritardo nella crescita del segmento R2 e con i cambiamenti regressivi a livello dell'epitelio situato mesialmente ad esso (Fig. 6).

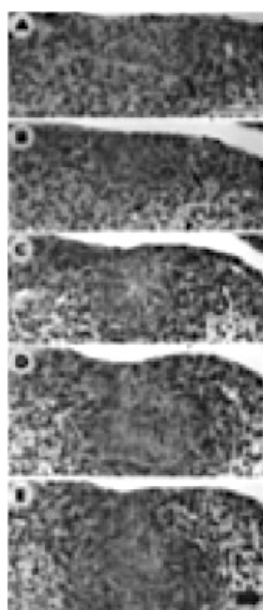


Fig.6- Sezione istologica frontale al giorno embrionario 12.5 (A) e 13.5 (B-E). (A,B)Il segmento mesiale nella fase di gemma. (C)La lamina che connette il segmento mesiale al segmento R2. (D)La forma allargata dell'epitelio nel segmento R2. (E) Epitelio localizzato distalmente al segmento R2.

La crescita segmentale dell'epitelio dentale nella mandibola avviene durante la transizione dallo stadio di cappuccio allo stadio di campana dell'organo dello smalto di M1. La fase di cappuccio corrisponde allo sviluppo della parte mesiale della corona; la porzione distale inizia a svilupparsi durante la successiva transizione da cappuccio a campana; la cuspidè più distale si sviluppa durante lo stadio di campana tardivo (Lesot et al., 1999).

Alcuni studi hanno valutato se il meccanismo di apoptosi sia implicato nella riduzione del numero di denti e nella definizione di margini dentali anomali nella mandibola del topo Tabby. Si è osservato che nei topi WT (wild-type) l'apoptosi si concentra nella cresta epiteliale mesiale, nel nodo primario e secondario dell'organo dello smalto e nel peduncolo

dell'organo dello smalto⁽⁵²⁾. Il pattern temporo-spaziale di distribuzione dell'apoptosi nella fase di cappuccio e nella fase di campana precoce di M1 nei topi WT è simile ai dati ottenuti con lo stesso metodo nei topi ICR (Imprinting Control Region) (Viriot et al., 1997). Si osservano specifici accumuli di cellule apoptotiche nello stadio di campana avanzato di M1: in particolare, una larga area apoptotica è localizzata nella parte mesiale di M1, dando origine alle cuspidi L1 e B1, e due piccoli foci di apoptosi sono localizzati a livello della superficie buccale dell'organo dello smalto, tra le probabili cuspidi B1 e B2 (al giorno embrionario 16.5) e tra B2 e B3 (al giorno embrionario 17.5), che sembrano anticipare le fessure intercuspидali. L'apoptosi nel peduncolo ed il suo passaggio al lato buccale del dente potrebbe essere correlato alla gemmazione dell'epitelio dentale nella parte distale del molare.

Paragonata ai topi WT, l'apoptosi nei topi TA risulta aumentata in specifiche sedi dell'epitelio dentale: è più intensa mesialmente ed estesa più distalmente nel TA nei giorni embrionari 15.5 e 16.5; include anche la parte più mesiale del dente primordiale, la quale appare più larga nel morfotipo I e più piccola nel II; nel morfotipo II, al giorno embrionario 17.5, l'apoptosi continua a sopprimere la parte più mesiale del dente interamente (il cappuccio abortivo nel morfotipo IIa e la gemma epiteliale in IIb).

L'apoptosi risulta silenziata nel morfotipo I, in cui la parte mesiale del dente primordiale sopravvive e dà origine ad un T1 funzionale.

La zona apoptotica mesiale è simile nei morfotipi I e II e la morte cellulare sembra procedere indipendentemente dalla morfogenesi dentale ai giorni embrionari 15.5 e 16.5; la differenza nel destino della parte più mesiale del dente primordiale (che sopravvive nel morfotipo I mentre si estingue nel morfotipo II), è correlata con il volume delle strutture (maggiore nel tipo I e minore nel II) nel momento in cui inizia il processo di morte cellulare.

Un dente mandibolare soprannumerario è stato riscontrato mesialmente al primo molare nel topo Tabby affetto da Displasia Ectodermica Ipoidrotica (Peterkova et al., 2005) (**Fig. 7**). Questo dente (S), si è pensato essere l'omologo del premolare scomparso durante l'evoluzione del topo. La presenza di S si accompagna ad una riduzione della porzione mesiale del primo molare nei topi mutanti. La ricostruzione 3D suggerisce che il dente S negli embrioni di Tabby omo o emizigoti, origina da una spaccatura della porzione mesiale del cappuccio del primo molare.

Negli embrioni WT, due denti vestigiali primordiali sono distinguibili davanti a M1 e quello distale ha la forma di una larga gemma e partecipa allo sviluppo della porzione mesiale del

primo molare. La scomparsa del premolare coincide con un allungamento mesiale del primo molare durante l'evoluzione del topo in quanto il premolare viene incorporato entro M1 durante l'embriogenesi (**Fig.8**).

Nel topo Tabby il dente soprannumerario S deriva da una segregazione del premolare primordiale rispetto alla dentizione molare e ciò rappresenta una regressione dell'evoluzione.

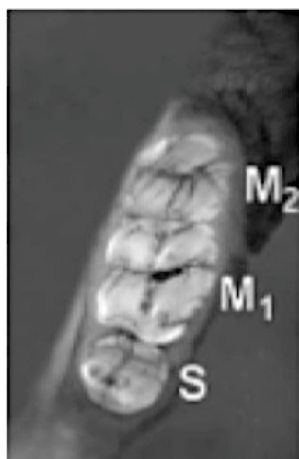


Fig.7- Dente soprannumerario (S) nel topo Tabby.

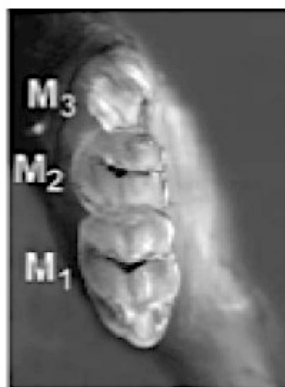


Fig.8- Allungamento della porzione mesiale del primo molare nel topo WT

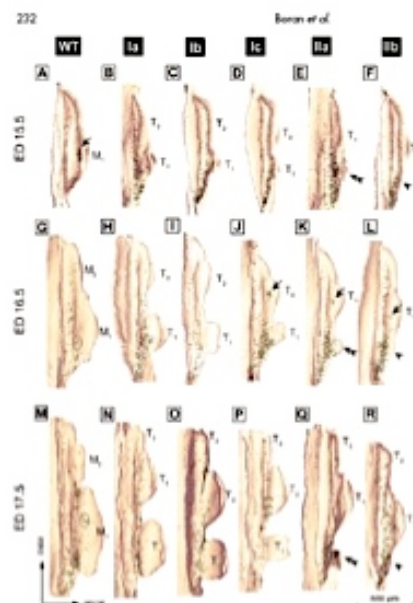
La “*upregulation*” dell’apoptosi nella parte mesiale della campana di M1 nei topi WT al giorno embrionario 17.5 conferma che l’epitelio dentale incorporato (il vestigio premolare) non è ancora stato completamente adottato da M1 da un punto di vista evoluzionistico. Di conseguenza, la parte mesiale del primo molare potrebbe rappresentare un locus minoris resistentiae nei topi mutanti. Il difetto nel processo di incorporazione dell’epitelio del premolare vestigiale può spiegare l’aumentata morte cellulare nella porzione mesiale dell’epitelio dentale del Tabby nella regione posteriore della mandibola (**Fig.9**).

In modo simile a quanto accade a livello di M1 nei topi WT, l'apoptosi è concentrata nella parte mesiale della campana di T2 nel morfotipo I di Tabby. Ciò supporta l'ipotesi che la parte mesiale di T2 include anche una componente eterogenea che corrisponde alla parte distale di M1 nei topi normali (Peterkova et al., 2002)(Fig.5).

L'apoptosi è di ridotta entità tra M1 e M2 al giorno embrionario 15.5 nei topi WT; nei campioni Tabby, in stadi di sviluppo simili, l'apoptosi è presente buccalmente a livello dell'epitelio che interconnette il primo e secondo dente primordiali. Comunque, questa apoptosi avviene troppo tardi per giocare un ruolo causale nella formazione dello spazio interdentale anomalo, il quale, più probabilmente, sembra risultare da una mancanza di gemmazione dell'epitelio dentale nell'apposita sede.

La mutazione nel gene EDA non sembra essere la causa primaria della "upregulation" dell'apoptosi che è stata osservata in specifiche aree dell'epitelio dentale nei topi Tabby dal giorno embrionario 15.5. Sembra che l'incremento dell'apoptosi sia la conseguenza dello sviluppo anomalo dei denti posteriori della mandibola, causato da un difetto nella segmentazione dell'epitelio dentale nei topi portatori della mutazione a livello di EDA.

Fig.9- Ricostruzione 3D dell'epitelio dentale nella regione posteriore della mandibola ai giorni embrionali 15.5, 16.5, 17.5. Le cellule apoptotiche sono rappresentate dai puntini neri. Singola freccia: gemma abortiva; doppia freccia: cappuccio abortivo.



In un articolo piuttosto recente pubblicato dal genetista A. Clarke, è riportato lo studio condotto da Gaide e Schneider di Ginevra, i quali hanno somministrato ai topi Tabby l'EDA (ectodisplasina) modificata in modo da superare la barriera placentare e raggiungere il feto.

Essa fornisce una grande capacità all'ectoderma di compensare l'assenza della proteina corretta. Si è dimostrato che, nei topi affetti, esiste un periodo "finestra", durante il quale la somministrazione della proteina consente il corretto sviluppo dei derivati ectodermici. Questa scoperta delinea un possibile approccio futuro per il trattamento di questa patologia nell'uomo. Rimane, tuttavia, la difficoltà di stabilire la fase esatta dell'embriogenesi umana, in cui la somministrazione della proteina potrebbe favorire lo sviluppo dei derivati ectodermici. A ciò si aggiunge il problema di una sperimentazione che dovrebbe interessare donne in gravidanza.

Classificazioni

Dal 1994 ad oggi sono state proposte tre diverse classificazioni delle Sindromi della Displasia Ectodermica.

Classificazione di Freire-Maia e Pinheiro

In questa classificazione, che risale al 1994, le E.D.s. vengono suddivise in due gruppi (A e B).

Al gruppo A appartengono tutte le E.D.s. che presentano interessamento di almeno due dei seguenti derivati ectodermici: unghie, capelli, denti, ghiandole sudoripare.

Al gruppo B appartengono le condizioni caratterizzate da difetto di una sola delle quattro strutture ectodermiche menzionate sopra, cui si aggiunge almeno un altro difetto ectodermico.

Gli Autori assegnano un numero ad ognuna delle principali strutture ectodermiche coinvolte:

1 = capelli

2 = denti

3 = unghie

4 = ghiandole sudoripare

Il gruppo A è diviso in 11 sottogruppi a seconda dei tessuti interessati e delle diverse associazioni possibili: 1-2; 1-3; 1-4; 2-3; 2-4; 3-4; 1-2-3; 1-2-4; 1-3-4; 2-3-4; 1-2-3-4.

Il gruppo B è suddiviso in quattro sottogruppi: 1-5; 2-5; 3-5; 4-5, in quanto le patologie appartenenti a tale gruppo sono identificate dal numero corrispondente alla struttura di base coinvolta (1,2,3,4) e dal numero 5 che indica altri difetti ectodermici.

Gli Autori riconoscono una variabilità nell'eziologia:

Causa sconosciuta (comprendente diverse situazioni)

La malattia è rappresentata da un singolo caso proveniente da una coppia normale non consanguinea. Questa situazione è rappresentata con il simbolo ?.

La malattia colpisce almeno due bambini. Almeno in uno la condizione non è congenita e i genitori sono sani; oppure uno dei due genitori presenta segni lievi della malattia mentre almeno un bambino li presenta tutti. Questa situazione è definita autosomico recessiva ed è rappresentata con il simbolo AR?.

La malattia è trasmessa dalla madre ai figli e/o alle figlie (questa situazione è compatibile con l'ipotesi di ereditarietà legata al cromosoma X). Oppure, uno dei genitori manifesta uno o più segni lievi (in questo caso il gene avrebbe espressività variabile). In entrambe le situazioni un gene dominante potrebbe essere il responsabile e, per questo motivo, le malattie che rientrano in tale gruppo vengono chiamate autosomico dominanti e rappresentate con il simbolo AD? .

Dal momento che, in alcuni casi, è possibile la responsabilità di un gene X-linked dominante, entrambe le ipotesi AD? E XD? sono considerate. La situazione in cui uno dei genitori manifesta uno o più segni sfumati della patologia, potrebbe essere interpretata come AR?. Tutte e tre le ipotesi si ritrovano in due condizioni (la sindrome di Coffin-Siris e la sindrome di Hallermann-Streiff) che appaiono come AD?, XD? e AR?.

La malattia colpisce solo i maschi oppure il soggetto affetto ha parenti maschi, nella linea materna, malati. In entrambi i casi non c'è né consanguineità tra i genitori né trasmissione fra maschio e maschio. Questa situazione è chiamata X-linked recessivo e viene rappresentata con il simbolo XR?. Dal momento che è possibile anche l'ipotesi AR?, quest'ultima può essere considerata unitamente alla prima (AR?,XR?). Ne è un esempio la Displasia Ectodermica con sudorazione focale.

Gli alberi genealogici sono compatibili con un'interpretazione autosomico dominante e la prole di padri e/o madri affetti è compatibile con un'interpretazione X-linked dominante. Questa condizione è chiamata, appunto, X-linked dominante ed è rappresentata con il simbolo XD?. Non sono descritti in letteratura casi di padri affetti con figli affetti e figlie normali (l'esistenza di questa situazione farebbe eccezione all'interpretazione XD).

Autosomico recessiva

Quando c'è almeno un matrimonio consanguineo (includendo una consanguineità remota) tra genitori normali di figli affetti, oppure entrambi i genitori presentano lievi manifestazioni della patologia. Queste situazioni sono rappresentate con il simbolo AR. La presenza di alcune coppie consanguinee normali ed il rischio di ricorrenza del 25% rinforzerebbe l'ipotesi.

Autosomico dominante

Quando è presente una trasmissione da entrambi i sessi a entrambi i sessi (o almeno da padre a figli/e). Questa situazione è rappresentata con il simbolo AD.

X-linked recessivo

Quando è dimostrata una trasmissione da madre portatrice a figli/e. Generalmente solo i maschi sono affetti. Figli normali e affetti sono in rapporto di 1:1. L'esempio più conosciuto è rappresentato dalla sindrome di Christ-Siemens-Touraine, nella quale circa il 70% dei portatori presenta segni moderati della malattia. Questa situazione è rappresentata con il simbolo XR.

X-linked dominante

Quando è dimostrata una trasmissione da padre affetto a figlie, mentre i figli maschi sono normali, e da madri affette a metà della prole (senza distinzioni di sesso). Questa situazione è rappresentata con il simbolo XD.

Classificazione di Priolo e Laganà

Nel 2001, gli Autori hanno pubblicato una nuova classificazione, criticando quella precedente di Pinheiro e Freire-Maia perché: -include condizioni tradizionalmente classificate come altre patologie, per esempio la discheratosi congenita e la sindrome "KID"; -riporta come malattie distinte situazioni che riflettono variabilità di espressione della stessa entità patologica; -include condizioni che non seguono strettamente i criteri diagnostici di Displasia

Ectodermica, essendo caratterizzate da un coinvolgimento secondario, piuttosto che da un difetto primario, dei derivati ectodermici.

Gli Autori abbandonano la designazione 1-2-3-4 nella definizione delle varie forme di Displasia Ectodermica, poiché credono che la variabilità di espressione possa rendere ingannevole tale classificazione e che il sistema numerico sia difficile da ricordare e scomodo da utilizzare.

Alla luce di quanto conosciuto circa le basi molecolari e le funzioni biologiche della Displasia Ectodermica, pubblicano una nuova classificazione, nel tentativo di integrare i dati molecolari e genetici con le caratteristiche cliniche. Propongono due differenti gruppi, ognuno dei quali risulta da mutazioni in geni con funzioni simili e possibilmente coinvolti nello stesso meccanismo di regolazione, sviluppo e/o patogenesi.

Gli Autori includono in questa classificazione solo quelle condizioni caratterizzate da difetti primari in almeno due dei seguenti derivati ectodermici: capelli, denti, unghie e ghiandole sudoripare. Sono esclusi i disordini riportati come singoli “case report” o come “personal communications” poiché la loro validità non può essere accertata e l’ereditarietà non può essere stabilita. Sono escluse quelle condizioni patologiche con interessamento secondario dei derivati ectodermici, probabilmente risultanti da un difetto primario diverso, che sono classificate come E.D.s. secondarie (ad esempio la sindrome di Rothmund-Thomson e la discheratosi congenita).

Lo scopo di questa classificazione è fornire ai clinici e ai ricercatori una chiave per capire meglio la grande variabilità clinica con cui si presentano le E.D.s., per distinguere i fenotipi più complessi (caratterizzati dalla sovrapposizione di differenti espressioni della stessa entità patologica) e per incentivare la ricerca di nuovi geni responsabili.

1° gruppo

In questo gruppo sono incluse tutte le condizioni patologiche in cui può essere riconosciuto o ipotizzato un difetto nella regolazione dello sviluppo e nell’interazione epitelio-mesenchimale, sulla base di un gene causativo identificato, con funzione provata o ipotizzata. Esiste una eterogeneità considerevole nella presentazione clinica.

Le E.D.s incluse in questo gruppo sono caratterizzate dal coinvolgimento dei maggiori derivati ectodermici. La Displasia Ectodermica Anidrotica legata al cromosoma X (X-linked)

è il più comune tipo di EDA. Esistono forme clinicamente simili che possono essere ereditate con modalità autosomica dominante o recessiva, molto più rare di quella legata al cromosoma X.

Incontinentia Pigmenti (IP), E.D.s Anidrotica con immunodeficienza (EDA-ID) e una nuova sindrome di EDA-ID con linfedema sono tre condizioni di questo gruppo per le quali è stato identificato un gene comune (NEMO).

In questo gruppo sono incluse anche E.D.s di cui non è stato identificato il gene causativo, ma che presentano un coinvolgimento dei maggiori derivati ectodermici, immunodeficienza, o anomalie funzionali del sistema nervoso centrale.

Anche le E.D.s. con maggior interessamento scheletrico sono incluse in questo gruppo, così come le E.D.s. con difetti del sistema endocrino (l'ipotiroidismo è frequentemente riportato in associazione con le E.D.s.).

Nella patogenesi delle E.D.s. sembra avere molta importanza l'alterazione del meccanismo di interazione epitelio-mesenchimale in quanto, durante lo sviluppo dei derivati ectodermici, epitelio e mesenchima sono induttori e bersagli l'uno per l'altro.

L'interazione tra ectoderma e mesoderma è sostenuta dall'espressione di specifiche proteine che agiscono attraverso la sequenza di determinati processi morfogenetici. Due meccanismi di regolazione di questa interazione sono stati fin'ora identificati e riconosciuti come coinvolti nella patogenesi delle E.D.s. L'interazione epitelio-mesenchimale può essere alterata in presenza di un coinvolgimento del sistema di regolazione NF- κ B (Nuclear Factor kappa Beta), nel quale interagiscono sia il sistema EDA-A1/DL sia il gene NEMO. Oltre al complesso EDA-A1/DL, altri geni causativi probabilmente coinvolgono lo stesso meccanismo di trasduzione del segnale, il che risulta in un fenotipo E.D.. Il complesso di legame EDA-A1/DL sembra regolare l'azione di NF- κ B, potenziandone l'attività attraverso uno specifico meccanismo di segnalazione. Recenti scoperte hanno mostrato che DL stimola NF- κ B attraverso la proteina NEMO. Rientra in questo gruppo anche la forma EEC (Ectrodactily-ectodermal dysplasia-cleft lip/palate), caratterizzata da mutazioni a carico di importanti fattori di regolazione della trascrizione, quali p63 e DLX3.

2° gruppo

Nel secondo gruppo sono incluse le patologie in cui è stato identificato un difetto in una proteina strutturale o in cui un difetto può essere dedotto da specifiche caratteristiche cliniche. I segni clinici delle E.D.s. appartenenti al secondo gruppo risultano molto eterogenei ed i più importanti sono: ipercheratosi, sordità, labio-palato-schisi e degenerazione della retina. Il meccanismo patogenetico è legato ad una funzione anomala delle proteine strutturali necessarie per la corretta formazione dei derivati ectodermici. Ad esempio la connectina-30, proteina con funzione di giunzione (gap junction) altamente espressa a livello cutaneo, è stata trovata mutata nella malattia di Clouston. Una singola mutazione puntiforme provoca disordini autosomico dominanti non sindromici, mentre mutazioni a carico di altre connectine determinano alterazioni sindromiche. Fa parte di questo gruppo la Displasia Ectodermica con associata fragilità cutanea (provocata da una alterazione a carico della Placofillina 1) e alcune forme di Displasia Ectodermica associate a labio-palato-schisi (determinate da mutazioni a carico del poliovirus receptor gene –PVRL-). Infine, sono state incluse in questo gruppo anche quelle forme di E.D.s. con degenerazione retinica che sono il risultato di mutazioni a carico di proteine PDZ.

Classificazione di Lamartine

Nel 2003, alla luce delle più recenti scoperte molecolari e biochimiche, Lamartine ha proposto una nuova classificazione delle Displasie Ectodermiche. L'Autore ha suddiviso i geni responsabili in quattro gruppi in base al loro coinvolgimento in determinate funzioni: - comunicazione e segnalazione tra cellule - adesione cellulare - regolazione della trascrizione - sviluppo cellulare (*Tab. I*).

Tab. I- Classificazione di Lamartine

<i>Disease</i>	<i>OMIM</i>	<i>Inheritance</i>	<i>Causative gene</i>	<i>Protein</i>	<i>Putative protein function</i>
					Cell-cell communication and signalling
Anhidrotic ED (ED1)	305100	XR	EDA	Ectodysplasin	Soluble ligand, activates NF- κ B pathway

Disease	OMIM	Inheritance	Causative gene	Protein	Putative protein function
Hypohidrotic ED (ED3)	129490	AD	DL	EDAR	EDA receptor
ED hypohidrotic	224900	AR	DL	EDAR	EDA receptor
ED hypohidrotic	224900	AR	EDARADD	EDARADD	Interacts with EDAR
Hidrotic ED (ED2, Clouston syndrome)	129500	AD	GJB6	Cx30	Form gap-junctions channels
Palmoplantar keratoderma with deafness	148350	AD	GJB2	Cx26	Form gap-junctions channels
Incontinentia pigmenti type 2	308300	XD	NEMO	IKK-gamma	Regulator of kinase phosphorylating I κ B
Hypohidrotic ED/ Immune deficiency	300291	XR	NEMO	IKK-gamma	Regulator of kinase phosphorylating I κ B
OLEDAID syndrome	300301	XD	NEMO	IKK-gamma	Regulator of kinase phosphorylating I κ B
					Adhesion
Margarita island ED (ED4)	225060	AR	PVRL1	Nectin-1	Ig-related cell–cell adhesion molecule
ED/skin fragility syndrome	604536	AR	PKP1	Plakophilin 1	Desmosomal protein
HJMD syndrome	601553	AR	CDH3	P-Cadherin	Calcium dependant cell adhesion molecule Regulation of transcription
Electrodactyly ED facial clefting	129900	AD	TP63	p63	Transcription factor, forms dimers with p53
Ankyloblepharon ED (AEC)	106260	AD	TP63	p63	Transcription factor, forms dimers with p53
ADULT syndrome	103285	AD	TP63	p63	Transcription factor, forms dimers with p53

Disease	OMIM	Inheritance	Causative gene	Protein	Putative protein function
SHFM syndrome	183600	AD	TP63	p63	Transcription factor, forms dimers with p53
Limb–Mammary Syndrome (LMS)	603543	AD	TP63	p63	Transcription factor, forms dimers with p53
Hypoparathyroidism renal dysplasia (HDR)	146255	AD or AR	GATA3	GATA3	Transcription factor
Ellis–Van Creveld syndrome (EVC)	225500	AR	EVC	EVC	DNA binding protein, putative transcription factor
					Development
Withkop syndrome	189500	AD	MSX1	Hox7	Putative homeodomain protein expressed in embryo
SMMCI syndrome	147250	?	SHH	Sonic Hedgehog	Specifies the dorso-ventral polarity of neural tube during development
					Others
Rothmund–Thomson syndrome (RTS)	268400	AR	RECQL4	RecQ protein like 4	Helicase, involved in DNA replication, repair and recombination
Dyskeratosis congenita (DKC)	127550	XR	DKC1	Dyskerin	Component of the telomerase ribonucleoprotein
Marshall syndrome	154780	AD	COL11A1	Collagen type XI, alpha 1	Protein of the extracellular matrix
AD, Autosomal dominant; AR, autosomal recessive; XR, X-linked recessive; XD, X-linked dominant; ?, unknown.					

Manifestazioni cliniche delle Displasie Ectodermiche

Le Displasie Ectodermiche sono caratterizzate da alterazioni di sviluppo dei derivati ectodermici (capelli, peli, denti, unghie, ghiandole sudoripare). Le forme più frequenti sono rappresentate dalla Displasia Ectodermica Ipoidrotica, definita anche sindrome di Christ-Siemens-Touraine e dalla Displasia Ectodermica Anidrotica. I maschi sono i più colpiti (90%), essendo la forma legata al cromosoma X ed ereditata in maniera autosomico-recessiva quella più frequente, mentre le femmine portatrici di un singolo gene alterato (eterozigoti), possono presentare segni lievi della patologia. Per quanto riguarda il distretto cefalico, i pazienti affetti presentano una serie di caratteristiche cliniche, in particolare anomalie dentali di numero (ipodonzia, oligodonzia o completa anodonzia) e di forma (denti conoidi) e anomalie craniofacciali che rendono la malattia di grande interesse odontoiatrico ed ortodontico (Cui et al., 2005; Itin et al., 2004; Rhuin et al., 2001)

Cute e annessi: la cute appare secca, ruvida e desquamata (soprattutto a livello del volto e del palmo di mani e piedi), marmorea, sottile, delicata, ipopigmentata e predisposta alle infezioni. Frequenti sono gli eczemi cutanei (**Fig. 10**).

Nella forma Idrotica la cute appare, invece, ispessita a livello delle articolazioni interfalangee, dei polpastrelli, della regione paraombelicale, delle ascelle, delle areole mammarie, delle tuberosità ischiatiche e talvolta dei gomiti e delle ginocchia (Giannetti et al., 2003). E' frequente l'ipercheratosi del palmo delle mani e della pianta dei piedi (**Fig.11**), in cui l'esame istopatologico mostra la presenza di paracheratosi, acantosi e spongiosi, con leggera infiltrazione linfocitaria perivascolare nel derma papillare e superficiale (Akhyani et al., 2007).



Fig.10- cute secca e desquamata



Fig.11- Ipercheratosi plantare

I capelli sono radi, sottili, corti (ipotricosi), con possibili alterazioni del fusto, di colore chiaro, “indisciplinati” a causa della mancanza di ghiandole sebacee (Freire-Maia et al., 1984)). In alcuni casi è presente alopecia totale (**Fig.12**). Anche i peli del corpo sono scarsi o assenti, sopracciglia e ciglia appaiono rade ed esili e, talvolta, mancano totalmente (Masse et al., 1994; Ryan et al., 2005), a causa della ridotta formazione o assenza dei bulbi piliferi (Clarke et al., 1987; Parat et al., 1969; Krawford et al., 1991). La crescita di barba e baffi nell'uomo può essere, invece, normale.



Fig.12- capelli radi e chiari.

Le ghiandole sudoripare sono presenti in numero ridotto (ipoplasia) o completamente mancanti (aplasia), con conseguenti gravi problemi di termoregolazione ed intolleranza al caldo che possono condurre a convulsioni febbrili e danni di tipo neurologico, come conseguenza della ridotta sudorazione (ipoidrosi o anidrosi, a seconda dei casi) (Crump et al., 1971; Segurado et al., 2002). Il quadro clinico spesso esordisce nei primi mesi di vita con

episodi di febbre elevata di origine sconosciuta; l'esordio può essere anche successivo, quando i soggetti affetti si sottopongono a esercizi fisici di notevole entità oppure in condizioni di ambiente caldo o, semplicemente, in seguito ad agitazione o ingestione di cibi caldi. In tali evenienze, oltre all'ipertermia, si assiste ad un aumento del polso, della ventilazione polmonare, della diuresi compensatoria e dell'alcalosi. Papule ipercheratosiche possono essere presenti al posto degli sbocchi delle ghiandole sudoripare; tali manifestazioni a livello del volto simulano eruzioni miliari.

Le ghiandole sebacee possono essere assenti o, più frequentemente, ridotte in numero; a livello delle pieghe ascellari, inguinali e del viso possono essere normali. La riduzione di tali ghiandole è responsabile delle frequenti irritazioni cutanee (Bal Et al., 2008). Si sono riscontrati rari casi di iperplasia paradossa (Masse et al., 1994). Le ghiandole mammarie possono essere ipoplasiche o assenti (Giannetti et al., 2003).

Occhi: la cute circostante la regione oculare appare generalmente iperpigmentata e particolarmente grinzosa con rughe evidenti, tale da apparire prematuramente invecchiata (**Fig.13**). Le manifestazioni oculari sono molto variabili e possono coinvolgere strutture ectodermiche quali la cornea, il sistema lacrimale, il cristallino e la retina (Masse et al., 1994; ryan et al., 2005). Le ghiandole lacrimali sono presenti in numero ridotto e di conseguenza gli occhi possono essere secchi e sviluppare abrasioni, cataratte, congiuntiviti e panuveite bilaterale. E' presente, talvolta, displasia corneale. Raramente a livello oculare si osserva opacità corneale e lenticolare.



Fig.13- cute perioculare iperpigmentata e grinzosa

Unghie: le unghie delle mani e dei piedi sono poco sviluppate, spesse, striate, discolorate, di forma anomala (iperconvessità, superficie irregolare) e facilmente soggette a frattura (**Fig 14**); crescono lentamente e talvolta sono totalmente mancanti. Possono essere inoltre presenti

infezioni croniche del paronichio, con distruzione completa della matrice e ipercheratosi sub-ungueale (Akhyani et al., 2007).



Fig.14- Distrofia ungueale

Distretto cefalico: il volto è caratteristico: appiattito nella parte media, con bozze frontali e margine sovraorbitario prominenti, naso piccolo, osso nasale frequentemente deviato e incavato (“naso a sella”), ali nasali e regione malare ipoplasiche, padiglioni auricolari piccoli e sporgenti, bordo del vermiglio tendente a scomparire, solco labio-mentale profondo (Ryan et., 2005). L’oligo-anodonzia determina la mancata formazione dei processi alveolari, di conseguenza le creste alveolari risultano atrofiche (ad eccezione delle aree in cui sono presenti i denti)(Bal et al., 2008)(**Fig.15**).



Fig.15- Severa atrofia ossea in aree edentule

L’assenza dei denti e l’atrofia ossea sono responsabili della perdita di dimensione verticale del terzo inferiore del viso. Nei pazienti affetti, l’indice di altezza facciale pari al 105%, se paragonato al valore normale dell’80% (Tarjan et al., 2005), è indicativo della notevole riduzione della dimensione verticale (**Fig.16**).

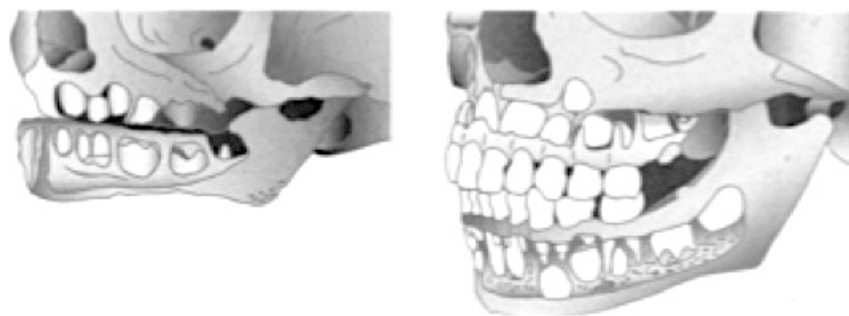


Fig.16-Riduzione di dimensione verticale in seguito ad agenesie multiple

Di conseguenza, le labbra appaiono protruse, con frequente eversione del labbro inferiore, il mento risulta appuntito e prominente, la mandibola protrusa (a causa di un'accentuata rotazione antero-superiore) (Sarnas et al., 1983) e la mascella retrusa e ipotrofica, caratteristiche tipiche della terza classe scheletrica (**Fig.17**). Fisiologicamente, i denti sostengono la formazione di osso grazie al processo di riassorbimento ed apposizione sollecitato dal legamento dento-alveolare; le agenesie frenano la crescita ossea trasversale, la crescita in senso sagittale di mandibola e mascella, lo sviluppo verticale dei mascellari e l'apertura dell'angolo mandibolare (Dibbets, 1990). Questa alterazione del viso, se non compensata protesicamente, conferisce ai bambini il tipico aspetto vecchieggiante (Imirzalioglu et al., 2002). Frequente è anche il morso profondo. Le anomalie facciali sono tanto più accentuate quanto più severa è l'ipodonzia (Rhuin et al., 2001). Per quanto riguarda la crescita mandibolare, secondo numerosi studi, nei bambini con Displasia Ectodermica è nelle norme; tuttavia bisogna considerare che si tratta di singoli "case report" quindi con un valore scientifico limitato, per cui prima di una conclusione definitiva sono necessari dati ricavati da campioni più numerosi.

La mancata crescita alveolare determina un incremento della distanza libera interocclusale che favorisce il posizionamento dei denti artificiali.

Talvolta sono state riscontrate caratteristiche quali la riduzione dei seni frontali, l'ipertrofia dei seni mascellari, la fragilità ossea dovuta ad una riduzione dei cristalli di idrossiapatite e le anomalie morfologiche dell'osso stesso (Rhuin et al., 2001).



Fig.17- Severa agenesia dentale, ipotrofia e retrusione mascellare, protrusione mandibolare con conseguente tendenza alla terza classe scheletrica.

Le ghiandole salivari possono mostrare alterazioni infiammatorie, ectasie dei dotti, aplasia o ipoplasia del parenchima ghiandolare, con conseguente ridotta secrezione salivare e xerostomia (Bergendal et al., 2006), responsabile di una maggiore predisposizione alla patologia cariosa e parodontale e di difficoltà nella fonazione, masticazione e deglutizione, caratteristiche, queste ultime, ulteriormente accentuate dall'ipotonicità della muscolatura masticatoria e peri-orale, che sembra derivare da un deficit di sviluppo dello strato mesenchimale e dall'agenesia dentale (Cawood et al., 1991). La ridotta secrezione salivare determina, inoltre, difficoltà di ritenzione della protesi.

Può essere consigliato l'utilizzo di sialogoghi tra i pasti ed il consumo di abbondanti quantità di fluidi.

E' frequente la macroglossia.

Vie aeree: La mucosa delle prime vie aeree può risultare ipoplasica, con conseguente maggiore predisposizione a riniti e faringiti croniche. Frequenti sono sia le ipoplasie a livello laringeo, tracheale e bronchiale, che possono determinare disfagia e afonia, sia le laringiti croniche causate dalla lubrificazione inadeguata delle corde vocali. L'atrofia della mucosa nasale è responsabile della comparsa di croste e di secrezioni fetide (ozena); la consistenza delle secrezioni nasali promuove la stasi di muco con conseguenti infezioni secondarie di naso e seni paranasali. Molto frequenti sono le manifestazioni allergiche (eczema, asma bronchiale estrinseca e rinite allergica)(82) e le infezioni respiratorie, in particolare bronchiti,

legate alla ridotta capacità e funzione polmonare (Yavuz et al., 2006). Può risultare vantaggiosa l'irrigazione delle cavità nasali mediante gocce saline e soluzioni di perossido o l'utilizzo di spray decongestionanti per il sollievo temporaneo dei sintomi respiratori (Masse et al., 1994). Il trattamento dell'otite media è solitamente chirurgico, a causa della natura cronica del disordine.

Elementi dentali: Entrambe le dentature, decidua e permanente, sono caratteristicamente compromesse: i denti derivano da un'interazione tra l'epitelio orale ed il sottostante mesenchima, pertanto, in seguito ad un'alterazione di tale sviluppo, sia i maschi affetti che le femmine portatrici (anche se in misura inferiore) presentano una serie di anomalie dentarie, che nei maschi hanno una prevalenza molto elevata, circa dell'80%, e possono riguardare il numero, la forma e/o la struttura.

Le anomalie di numero nella Displasia Ectodermica possono variare dall'agenesia di alcuni elementi fino all'anodonzia. Si parla di ipodonzia per indicare l'assenza di uno o pochi elementi dentali, di oligodonzia per indicare l'assenza di almeno sei elementi dentari e di anodonzia per indicare l'assenza totale dei denti (**Fig.18**). Solitamente, i maschi affetti presentano agenesia della maggior parte dei denti decidui e permanenti, mentre le femmine eterozigoti hanno un'aumentata frequenza di agenesie rispetto ai controlli, ma in grado nettamente inferiore rispetto ai maschi affetti. Alcuni Autori riportano che, approssimativamente, il 25% dei bambini con Displasia Ectodermica presenta anodonzia, mentre il 75% è affetto da oligodonzia (Crawford et al., 1991).

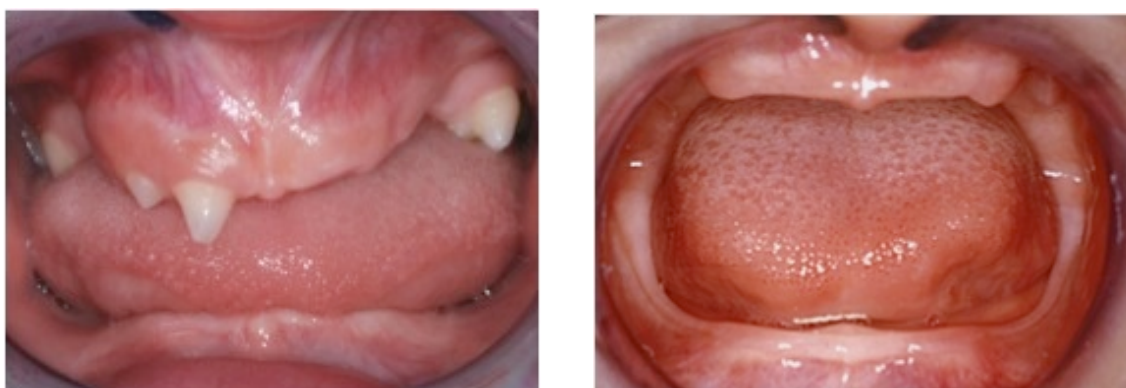


Fig. 18- Oligodonzia; anodonzia

Alcuni studi dimostrano che l'oligodonzia è più frequentemente associata alla forma ereditaria dominante oppure a quella X-linked (Tsai et al., 1998).

Nell'ambito della popolazione generale, l'ipodonzia coinvolge tra il 2,6 e l'11,3% degli individui, mentre oligodonzia e anodonzia riguardano una percentuale molto più bassa (Larmour et al., 2005).

Secondo lo studio di Lexner et al. (2007), la media dei denti permanenti assenti (escluso M3) è 22 tra i maschi affetti (con un range che va da 14 a 28), mentre il numero medio di elementi presenti è di soli 5 (con un range da 0 a 14). E' stato inoltre osservato che i denti più frequentemente presenti in questo gruppo sono gli incisivi centrali mascellari, i primi molari mascellari e mandibolari ed i canini mascellari; all'interno del gruppo di maschi affetti, il numero totale di denti in agenesia è di 225 nell'arcata mascellare, contro i 274 di quella mandibolare, ad indicare quindi una maggiore incidenza di denti mancanti in quest'ultima regione, dato confermato da altri studi. Lo stesso studio mostra che tra le femmine portatrici la prevalenza di agenesia di almeno un elemento dentale è nove volte più alta rispetto ai controlli, l'agenesia di 6 o più denti permanenti è rilevata in almeno un quarto di questo gruppo, rispetto ad una prevalenza di solo lo 0.4% nei controlli; tuttavia, il numero medio di denti mancanti è solamente 4, quindi meno di un quinto rispetto al dato rilevato nella popolazione maschile affetta, ma con un range estremamente ampio (da 0 a 22). Nell'ambito di questo gruppo, la prevalenza di agenesia è all'incirca la stessa in mandibola e mascella.

I denti assenti con maggiore frequenza risultano essere gli incisivi laterali mascellari, gli incisivi centrali e laterali mandibolari ed i premolari (soprattutto i primi nei maschi, soprattutto i secondi nelle femmine), sia in regione mascellare che mandibolare. Altri studi riportano una media di denti permanenti in agenesia di 23.7 (Suri et al.) (Farrington, 1988), (Crawford et al., 1991), oppure 14,7 +/- 7,5 (Prager et al., 2006). Secondo questi ultimi Autori, il numero medio di elementi mancanti è maggiore nella mandibola rispetto alla mascella; nell'arcata superiore i denti che più frequentemente sono assenti risultano gli incisivi laterali, i secondi premolari e i secondi molari, mentre incisivi centrali, canini e primi molari mostrano una scarsa tendenza all'agenesia. Nell'arcata inferiore, incisivi, secondi premolari e secondi molari raramente risultano sviluppati, mentre canini e primi molari sono presenti in molti pazienti. In particolare, l'agenesia più frequente è quella dell'incisivo laterale superiore, seguito dal secondo premolare inferiore e ciò differisce da quanto accade nell'ambito della popolazione generale, dove l'agenesia più frequente è quella del secondo

premolare mandibolare seguito dall'incisivo laterale mascellare. In entrambi i mascellari le agenesie si sono osservate più frequentemente nel lato sinistro, dato riscontrato anche nella popolazione generale (Prager et al., 2006).

-Le anomalie di forma sono molto frequenti nella Displasia Ectodermica e possono coinvolgere sia la corona che la radice. Molto comune è la forma conoide della corona dentaria, che riguarda principalmente incisivi, canini e talvolta premolari; meno frequente e caratteristica è la forma affusolata (tapered), che interessa soprattutto gli incisivi (**Fig.19**) (Lexner et al., 2007).



Fig.19-forma conoide

I denti posteriori presentano in genere dimensioni ridotte, soprattutto quella mesio-distale e cuspidi frequentemente diminuite in numero e con forma curva. Per quanto riguarda la radice dei molari, sempre secondo lo studio di Lexner et al. (2007), si possono riconoscere tre tipologie: -separata, costituita cioè da tre componenti radicolari separate nei molari mascellari e due componenti separate nei molari mandibolari, parzialmente fusa, in cui le componenti radicolari si presentano più o meno fuse tra loro; -piramidale (cuneiforme), in cui la superficie occlusale del dente forma la base della piramide, mentre la punta della radice il suo apice. Un altro aspetto abbastanza caratteristico è il taurodontismo, condizione in cui il corpo del dente risulta allargato a spese della radice (Mena, 1971), caratteristica confermata da altri studi (Crawford et al.); il secondo molare deciduo, quando presente, è il dente più spesso affetto da tale anomalia (Lo Muzio et al., 2005).

Sia le femmine portatrici sia, soprattutto, i maschi affetti, presentano una frequenza molto elevata di anomalie di forma rispetto ai controlli. I denti permanenti appaiono di dimensioni più piccole e, quando presenti, molto spazati gli uni con gli altri.

Le anomalie di forma nell'arcata mascellare riguardano principalmente incisivi centrali e canini, mentre, in regione mandibolare, le anomalie più frequenti sono quelle che coinvolgono canini e primi molari, ma, nel complesso, l'arcata inferiore mostra una minore incidenza di alterazioni di forma. Nell'ambito della popolazione generale, invece, le anomalie di forma riguardano principalmente incisivi laterali e premolari mascellari (Prager et al., 2006).

-Per quanto concerne le anomalie di struttura, molto frequente è l'ipoplasia dello smalto, che risulta visibile ai raggi X già dal primo anno di vita e che contribuisce ad aumentare il rischio di patologia cariosa.

Alcuni Autori sostengono che, sia le agenesie dentali che le anomalie morfologiche, siano sintomi di una suscettibilità geneticamente determinata: le anomalie di forma rappresentano un micro sintomo, mentre l'agenesia rappresenta la piena manifestazione di tale suscettibilità. L'eruzione dentaria risulta spesso ritardata, inoltre in molti bambini i denti permanenti sono visibili all'ortopantomografia ad un'età piuttosto avanzata (circa 5 anni), a causa di un ritardo nel processo di mineralizzazione, che è associato all'oligodonzia e che incrementa all'aumentare del numero di denti mancanti (Yavuz et al., 2006). Molto frequente è anche l'inclusione dentaria. Si è potuto osservare, in alcuni pazienti affetti da Displasia Ectodermica, la presenza di denti decidui persistenti. Tale fenomeno può riguardare entrambe le mascelle con uguale incidenza, coinvolge principalmente canini e secondi molari decidui e di solito si accompagna all'agenesia degli adiacenti incisivi laterali o secondi premolari permanenti. Questi elementi generalmente non sono in anchilosi, possono preservare il processo alveolare e facilitare il trattamento protesico, potendo essere sfruttati come ancoraggio della protesi, anche se solo temporaneamente.

I denti possono presentare anomalie a livello, sia della componente ectodermica (lo smalto), che della componente di origine mesodermica (la dentina).

Diversi Autori sostengono che, molto spesso, la diagnosi di Displasia Ectodermica viene avanzata proprio sulla base della forma e del numero di denti presenti in arcata (Masse et al 1994).

Altro: è possibile riscontrare ipoplasia a livello gastrointestinale e ipogonadismo. In genere l'intelligenza è normale così come i segni vitali, ma può essere presente, in alcuni rari casi, deficienza mentale. I familiari possono essere del tutto indenni o presentare ipotrichia di varia entità, ipodonzia, ipoplasia delle ghiandole sudoripare, specialmente per quanto riguarda le donne portatrici. Possono, talvolta, essere presenti ulteriori complicanze

otorinolaringoiatriche quali otiti (medie ed esterne), epistassi e diminuzione dell'udito, fino, in alcuni casi, alla totale sordità (Akhyani et al., 2007). I padiglioni auricolari sono spesso bassi e ampi. Sono stati riportati casi con deviazione delle falangi di mani e piedi. Molto raramente, la malattia è accompagnata da polidattilia, sindattilia, disturbi sensoriali, nanismo, disturbi ossei e scheletrici ed epilessia, nella maggior parte dei casi lo sviluppo fisico è normale (Giannetti et al., 2003). In alcune forme di E.D.s. (es. sindrome di Zlotogora-Ogur/Rosselli-Guglielmetti), è presente labio-palato-schisi. Alcuni individui possono presentare ipercheratosi a livello di gomiti, ginocchia, articolazioni interfalangee e sotto il margine libero delle unghie. La malattia non coinvolge solamente i derivati ectodermici e, pertanto, si osservano, in alcuni casi, alterazioni a livello dei derivati neuroectodermici (cellule melanocitiche, placodi sensoriali) e dei derivati mesenchimali (derma, ipoderma, cellule endoteliali cervico-facciali).

Le anomalie presenti rimangono stabili per tutta la vita, benché le lesioni ungueali e cutanee tendono a migliorare con l'età. Il trattamento dei disordini correlati alla Displasia Ectodermica è generalmente palliativo e viene effettuato, pertanto, per ottenere una riduzione dei sintomi.

Le anomalie dentarie rappresentano una delle menomazioni più gravi sotto il profilo funzionale, psicologico ed estetico, che subiscono i pazienti affetti da questa malattia. Sono infatti causa di notevoli disagi: non solo l'assenza totale di denti, ma anche le agenesie multiple e le anomalie di forma e struttura possono creare difficoltà nella masticazione dei cibi (quindi problemi di nutrizione), difficoltà nella fonazione (in particolare nell'articolazione di alcuni suoni) e problemi estetici, quindi anche psicologici, per il bambino, legati al fatto che, spesso, le caratteristiche cranio-facciali della patologia determinano una tipica "facies" ed un aspetto vecchieggiante nel piccolo paziente (**Fig.20**). Per tali ragioni, si ritiene di estrema importanza il trattamento precoce delle alterazioni orodentali tipiche della sindrome, a partire dai due-tre anni di età, prima che il bambino cominci a frequentare l'asilo e a prendere contatto con i suoi coetanei.

Tuttavia, di prioritaria importanza dal punto di vista medico rimangono i problemi legati alla mancata secrezione delle ghiandole sudoripare e alla conseguente ipertermia.



Fig.20- Caratteristica “facies”.

Diagnosi

Di fondamentale importanza risulta la diagnosi precoce della malattia, che dovrebbe essere effettuata in epoca neonatale o quantomeno al più presto dopo la nascita allo scopo di:

- Evitare le complicanze che mettono in pericolo la vita del neonato, prima fra tutte quella legata alla ridotta sudorazione, tipica delle forme ipo-anidrotiche, che determina un'intolleranza alle alte temperature e può condurre all'ipertermia.
- Iniziare precocemente il trattamento riabilitativo del cavo orale.
- Informare i genitori del neonato affetto dalla sindrome del rischio che si potrebbe verificare nel caso di una seconda gravidanza: il 50% dei maschi saranno emizigoti affetti, il 50% delle femmine saranno eterozigoti portatrici.

Bisogna sottolineare che le manifestazioni dentali possono rappresentare il reperto clinico più significativo in alcune malattie ereditarie, fornendo così informazioni di grande aiuto nella formulazione della diagnosi. La mancata eruzione dei denti decidui è, ad esempio, un'evenienza molto rara nella normalità e può quindi indirizzare verso la diagnosi di sospetto di Displasia Ectodermica, soprattutto, quando all'agenesia di alcuni elementi si associa la presenza di anomalie di forma e struttura in quelli erotti (Ryan et al., 2005).

Dal momento che spesso l'agenesia dentale rappresenta il solo motivo per cui il paziente richiede un trattamento, l'odontoiatra si trova in una posizione ideale per osservare e valutare segni e sintomi di origine ectodermica in individui con oligodonzia. Nonostante, infatti, le agenesie dentarie possano coinvolgere anche la popolazione sana e pazienti con altre sindromi malformative maxillo-facciali, questa caratteristica risulta essenziale per poter avanzare la diagnosi di Displasia Ectodermica (Rhuin et al., 2001).

La malattia difficilmente viene diagnosticata alla nascita a causa della difficoltà o dell'impossibilità di riconoscere le manifestazioni cliniche tipiche della sindrome, dal momento che il neonato non ha denti erotti, presenta normalmente capelli sparsi e fini e le unghie non possono essere adeguatamente valutate. Spesso la diagnosi viene posta alcuni mesi più tardi, quando il bambino presenta episodi di febbre elevata di origine sconosciuta, per cui vengono poste tutta una serie di indagini cliniche e strumentali. Benché, quindi, la diagnosi di Displasia Ectodermica possa essere considerata quando compaiono episodi inspiegabili di iperpiressia, altri sintomi possono fuorviare il clinico. Ad esempio, pazienti con ipoparatiroidismo idiopatico, frequentemente sviluppano anomalie ectodermiche che possono ostacolare la diagnosi; alcuni Autori riportano casi in cui l'ozena rappresenta l'unico sintomo evidente di Displasia Ectodermica; la diagnosi può essere difficile da raggiungere anche in caso di ipotiroidismo (Masse et al., 1994).

Per eseguire la diagnosi esistono diversi metodi, alcuni più semplici ed immediati, altri più complessi.

Metodi piuttosto complessi ma efficaci per poter indirizzare precocemente la diagnosi di Displasia Ectodermica, sono tutti quelli che possono essere effettuati in epoca prenatale e che comprendono:

Analisi del linkage genetico: tramite la sintesi di oligonucleotidi di DNA, uno corrispondente alla sequenza del gene normale nella regione della mutazione e uno corrispondente alla sequenza mutante, viene riconosciuto il/i gene/geni mutante/i a partire dal DNA isolato da cellule fetali, in particolare dai villi coriali. Questa tecnica, piuttosto invasiva, viene solitamente effettuata nel caso in cui il feto sia particolarmente a rischio di malattia, poiché concepito da individui affetti.

Fetoscopia: viene inserito l'endoscopio nel sacco amniotico così da permettere la visione diretta del feto e l'accesso ai tessuti. Normalmente dopo la 20°-24° settimana di vita intrauterina si sviluppano i follicoli piliferi e le ghiandole sudoripare, pertanto la loro assenza,

verificata tramite biopsia cutanea, può indirizzare verso la diagnosi. Tale tecnica non risulta attualmente indicata come indagine di routine.

Ecografia: attraverso questo esame è possibile diagnosticare l'eventuale assenza di germi dentari, che normalmente sono visibili a partire dalla 19° settimana di gestazione in virtù del processo di mineralizzazione dei tessuti che ha inizio tra la 14° e la 18° settimana. Tramite l'ecografia non è però possibile diagnosticare l'esatto numero di germi, la forma e la localizzazione degli stessi.

La diagnosi prenatale è quindi molto importante sia, come già puntualizzato in precedenza, per poter mettere in atto tutte le misure preventive e cautelative allo scopo di evitare l'insorgenza delle gravi complicanze mediche alle quali il bambino può incorrere, sia, soprattutto nel caso di una coppia con un primo figlio affetto, per informare i genitori della situazione, consentendo loro una scelta ponderata e consapevole, cioè permettendogli di valutare la possibilità di un aborto terapeutico (Masse et al., 1994).

La diagnosi postnatale viene effettuata fondamentalmente sulla base di:

- Episodi di ipertermie senza causa apparente.
- Valutazione dell'OPT delle arcate dentarie, che mostra l'assenza, parziale o totale, di germi dentari.
- Osservazione dei segni clinici che il bambino può presentare alla nascita o in seguito. Come puntualizzato precedentemente, si tratta di una valutazione piuttosto difficile, dal momento che i neonati presentano fisiologicamente i segni caratteristici di displasia (quali l'ipotricosi e l'anodonzia), per cui la malattia viene scoperta in epoca tardiva, quando si rendono particolarmente evidenti i segni clinici caratteristici.
- Biopsia cutanea, effettuata allo scopo di confermare la diagnosi, in quanto, nei soggetti ED, i campioni prelevati mostrano una riduzione dei follicoli piliferi e delle ghiandole sebacee, associata ad un incompleto sviluppo o mancanza totale di ghiandole sudoripare. Queste ultime sono particolarmente numerose a livello del palmo della mano e della pianta dei piedi, pertanto, un aiuto nella diagnosi potrebbe derivare dalla determinazione del numero e della maturità di ghiandole in questi distretti.

Come alternativa alla tecnica precedente, può essere valutata la possibilità di una visualizzazione diretta dei pori ghiandolari mediante un oftalmoscopio, essendo questa un'indagine sicura e non invasiva

Può essere valutato il livello di sudorazione mediante un metodo di ionizzazione, che determina la concentrazione di cloruro nel sudore. Si tratta di una tecnica delicata e non nociva, che, tuttavia, può dare risultati equivoci.

- Analisi del capello, che appare sottile e fragile.

L'analisi genetica molecolare, allo scopo di evidenziare mutazioni a livello di EDA, EDAR, NEMO ecc., può, eventualmente, essere effettuata in epoca post natale per confermare la diagnosi clinica, per differenziare tra la forma X-linked e la forma autosomica di Displasia Ectodermica e per identificare il portatore della mutazione tra i parenti di sesso femminile di un maschio affetto.

Può essere effettuata l'analisi dei tessuti dentali che mette in evidenza:

- lamine dentarie discontinue con cellule di forma irregolare;
- germi dentari piccoli, irregolari, a cellule discontinue, separate dall'ectomesenchima,
- epitelio dello smalto interno ed esterno non visibile.

I biomarkers dentali (anomalie della corona o della radice) possono aiutare nell'identificazione clinica di femmine potenzialmente eterozigoti (Lexner et al., 2007).

E' importante ricordare come, molto spesso, la diagnosi differenziale tra la Displasia Ectodermica Idrotica e la forma Anidrotica si basa sulla valutazione della sudorazione, che appare normale nella DEI e deficitaria nella DEA. Questo aspetto risulta molto importante vista l'oggettiva difficoltà nel porre diagnosi di Displasia Ectodermica Idrotica (o sindrome di Clouston), a causa dell'estremo polimorfismo con cui questa può presentarsi (a seconda dei derivati ectodermici interessati), ma in cui la sudorazione appare sempre normale.

La diagnosi di Displasia Ectodermica Anidrotica legata al cromosoma X (sindrome di Christ-Siemens-Touraine), raramente viene effettuata prima dell'adolescenza, ma può essere sospettata in presenza di ipertermie inspiegabili. La "facies" caratteristica è patognomica, ma non sempre facile da riconoscere. La presenza di denti conoidi rappresenta il sintomo principale nelle forme parziali, ma la diagnosi viene confermata mediante biopsia cutanea e attraverso, appunto, la valutazione della sudorazione. La Displasia Ectodermica Anidrotica autosomica recessiva, dal punto di vista fenotipico è indistinguibile dalla precedente ma può interessare entrambi i sessi in uguale misura (non essendo legato al cromosoma X). La diagnosi differenziale va posta nei confronti di patologie come: sifilide congenita, anidrosi familiare semplice, aplasia congenita della cute, discheratosi congenita, febbre di origine

sconosciuta, sindrome di Werner e di Rothmund-Thompson, pachionichia congenita, polmonite infantile ricorrente ecc. (Pipa-Vallejo et al., 2008).

L'odontoiatra può, quindi, svolgere un ruolo diagnostico fondamentale, soprattutto in quelle forme in cui sintomi non strettamente legati al cavo orale siano poco evidenti e può, pertanto, indirizzare il paziente e la sua famiglia verso approfondimenti diagnostici.

La prognosi è generalmente buona anche se in Letteratura è riportata una mortalità significativa fino al 30%, legata ad episodi di iperpiressia in età pediatrica ma anche a complicazioni settiche, a difetto dell'accrescimento e a infezioni respiratorie acute che sembrano essere legate alla mancanza di ghiandole mucose nel tratto respiratorio.

CAPITOLO 2

Trattamento dei pazienti affetti da E.D.s

Il paziente affetto da Displasia Ectodermica necessita di un intervento interdisciplinare che coinvolge più specialisti in grado di affrontare su diversi fronti la patologia. Nel trattamento di questi pazienti entrano in gioco un “team” medico (composto da genetista, pediatra, dermatologo, otorinolaringoiatra) ed un “team” odontoiatrico (composto da pedodontista, protesista, ortodontista, chirurgo maxillo-facciale), ma anche psicologo e logopedista, i quali interagiscono tra loro affrontando i diversi aspetti della patologia, dalla fase iniziale dell’inquadramento diagnostico, alla terapia in età evolutiva, fino alla riabilitazione definitiva, ciascuno nell’ambito delle specifiche competenze e con l’obiettivo comune di promuovere la salute del paziente e una buona qualità di vita.

Il corretto sviluppo sociale e psicologico dei pazienti affetti da Displasia Ectodermica impone che questi si vedano e sentano il più “normale” possibile.

Tali bambini presentano in genere una normale intelligenza e aspettativa di vita e ciò giustifica fortemente l’interesse professionale rivolto al loro benessere psico-fisico, che potrebbe essere negativamente influenzato dall’aspetto estetico. L’aspetto dentale, così come l’aspetto estetico in generale, risulta estremamente importante, poiché può influenzare l’autostima. Col passare del tempo, lo sviluppo e le interazioni sociali del bambino diventano sempre più significative: diverse ricerche dimostrano che i bambini rifiutati o derisi dai loro coetanei sono più soggetti a sviluppare problemi psicologici nell’età adulta, che in alcuni si manifestano con depressione, estrema timidezza ed isolamento, in altri, al contrario, con aggressività, impulsività e disobbedienza (Hickey et al., 2006). Inoltre, questi pazienti si trovano frequentemente ad affrontare lo stereotipo che tende a correlare la presenza di insolite caratteristiche facciali ad una ridotta intelligenza (Hickey et al., 2006) e che potrebbe, di conseguenza, determinare una minore fiducia nelle proprie capacità. È stato dimostrato che pazienti in età evolutiva realizzano le loro specifiche condizioni all’età di 9 anni quando confrontano se stessi con i coetanei (Hogberg et al., 1986) e spesso cadono in periodi di depressione (Nussbaum & Carrel 1976). Per questo motivo è fondamentale riabilitare il bambino il prima possibile per favorire l’integrazione sociale e prevenire l’isolamento.

La riabilitazione protesica risulta pertanto fondamentale per contribuire ad uno sviluppo psicologico-emotivo normale, analogo a quello dei coetanei sani. E' importante, tuttavia, che il paziente mantenga delle aspettative realistiche riguardo ai risultati del trattamento.

La patologia può essere pericolosamente complicata dall'assenza o dal ridotto sviluppo delle ghiandole sudoripare, il che impone una particolare attenzione, nel corso del trattamento, al fine di evitare fenomeni di ipertermia che potrebbero essere provocati dall'agitazione del bambino e da eventuali crisi di pianto. E' bene, quindi, mettere in atto tutta una serie di misure precauzionali quali: utilizzo di abiti molto leggeri, ambiente ventilato, impacchi di acqua fredda, "contenzione dolce" da parte di un genitore e sospensione del trattamento in caso di intense reazioni di pianto.

La Displasia Ectodermica è una condizione piuttosto difficile da riabilitare protesicamente: bambini e adolescenti affetti da tale patologia richiedono trattamenti complessi, a causa sia dei notevoli deficit di sviluppo scheletrico e della ridotta salivazione (che comportano un'estrema difficoltà di ritenzione della protesi), sia della giovane età del paziente (che può essere responsabile di scarsa collaborazione); ulteriori problematiche derivano dalla crescita e sviluppo delle basi scheletriche e dalla possibile eruzione di alcuni elementi dentali.

Diversi Autori sostengono che il trattamento di pazienti pediatriche affetti da ED richieda una buona conoscenza da parte del clinico riguardo la crescita e lo sviluppo, le tecniche di fabbricazione delle protesi e la possibilità di modificare i denti conoidi presenti in arcata. Deve, inoltre, essere in grado di motivare paziente e genitori all'uso delle protesi e alla necessità di un continuo follow-up, per la modificazione o sostituzione delle stesse. Se l'odontoiatra non è a conoscenza di uno o più di tali aspetti, dovrebbe consultarsi con degli specialisti oppure affidare a questi il trattamento (Nowak, 1988).

È importante, inoltre, la conoscenza delle modalità di comportamento e di approccio con il paziente pediatrico; secondo alcuni Autori sarebbe utile la sedazione dei bambini particolarmente problematici in caso di sedute lunghe e complesse. Altri, invece, sono contrari a questa tecnica, poiché sostengono che il confezionamento di una protesi corretta debba implicare la collaborazione da parte del piccolo paziente durante le registrazioni richieste, per cui preferiscono un approccio di tipo tell-show-do, benché sia più impegnativo. Per ottenere la collaborazione e la fiducia del paziente, infatti, possono essere necessarie diverse sedute di "avvicinamento", introduttive alla terapia, durante le quali vengono applicate, oltre alla tecnica sopra citata, anche quella della desensibilizzazione e del rinforzo positivo. I genitori

possono facilitare oppure impedire il successo di questa fase; solo nei casi in cui sono di ostacolo e peggiorano la compliance del bambino, devono essere allontanati.

Quando il trattamento comincia, è molto importante che il bambino ed i genitori comprendano ogni procedura ed i suoi risultati, che abbiano un'idea di come la protesi finita apparirà, di come può giovare al paziente, di come prendersene cura e dei suoi limiti; il paziente deve sempre essere coinvolto ed avere un ruolo attivo nelle decisioni.

In ogni caso, dopo la consegna della protesi è necessario programmare richiami periodici ad intervalli regolari per aggiornare i manufatti in base alla crescita scheletrica, effettuare i necessari aggiustamenti, monitorare l'igiene orale, ispezionare le mucose (Sarvan et al., 2000) ed eventualmente effettuare applicazioni topiche professionali di gel fluorato. I genitori vengono comunque istruiti a presentarsi dall'odontoiatra ogni volta che il bambino lamenta un qualunque discomfort. I problemi più frequenti che possono verificarsi sono la perdita di ritenzione della protesi, le modificazioni occlusali, a causa dell'eruzione dentale o dello sviluppo delle basi ossee (Lo Muzio et al., 2005). Bambino e genitori devono quindi essere a conoscenza di questi cambiamenti e del fatto che l'iter riabilitativo è, di conseguenza, molto lungo e può comprendere numerose soluzioni protesiche provvisorie prima di arrivare a quella definitiva.

E', inoltre, molto importante che il bambino venga istruito a portare sempre le protesi durante la giornata, tranne quando va a dormire, e a maneggiarle con cura. Grande attenzione deve essere posta al mantenimento dell'igiene orale del bambino per poter usufruire a lungo dei benefici della protesi; i genitori dovrebbero attentamente monitorare lo spazzolamento dei denti e le abitudini dietetiche, cercando di ridurre il più possibile, nel figlio, l'ingestione di dolcetti e snacks tra i pasti. Se necessario, i pazienti dovrebbero quotidianamente assumere compresse fluorate in relazione al peso corporeo e all'età (Pipa-Vallejo et al., 2008), oppure effettuare applicazioni topiche domiciliari di fluoro onde evitare l'insorgenza di lesioni cariose a livello degli elementi presenti, che devono essere conservati il più a lungo possibile, data la loro importanza nella ritenzione della protesi e nel mantenimento dell'osso alveolare e della lunghezza dell'arcata.

A seconda della severità del quadro (morfologia e dimensione dei denti, quantità di osso disponibile) ed in base all'età (Imirzalioglu et al., 2002), il trattamento dei pazienti con Displasia Ectodermica si può avvalere di diverse tecniche: protesi parziale fissa (provvisoria) o rimovibile, protesi totale a supporto mucoso in caso di edentulismo totale (o a copertura dei

denti presenti quando questi sono in fase di eruzione) oppure protesi supportata da impianti (Centiner et al., 2001). I denti artificiali utilizzati possono essere in resina, composito oppure ceramica. Nuove tecniche, quali quelle adesive e nuovi materiali, come le resine composite, rappresentano oggi scelte molto valide per restaurare gli elementi conoidi allo scopo di ottenere un risultato estetico favorevole (Lo Muzio et al., 2005). Questi approcci, che possono essere utilizzati da soli o in combinazione tra loro per ottenere un risultato ottimale, risultano fondamentalmente analoghi a quelli applicati nella terapia degli adulti.

A causa della precoce età di inizio della terapia e della necessità di modificare agevolmente le protesi durante il periodo di rapida crescita, diversi Autori consigliano, inizialmente, l'utilizzo di protesi removibili, parziali o totali a seconda delle necessità (Gardel et al., 1985; Hickey et al., 2001; Pigno et al., 1996), così da consentire al paziente di adattarsi alla nuova dimensione verticale di occlusione e avere un'idea di quello che sarà il risultato della riabilitazione definitiva.

La riabilitazione provvisoria permette, inoltre, al clinico di capire se il paziente può tollerare tali cambiamenti, attraverso la valutazione dei possibili sintomi temporo-mandibolari e dolore muscolare.

In ogni caso, il trattamento deve sempre essere valutato su base individuale, in considerazione del fatto che le caratteristiche maxillo-facciali variano da un soggetto all'altro e deve mirare ad ottenere una buona stabilità oclusale.

Più tardi si potrà procedere con una protesi fissa provvisoria, fino a che la situazione non sia così stabile da rendere possibile il trattamento implantare (Sweeney et al., 2005; Alcan et al., 2006; Guler et al., 2005).

Il posizionamento di impianti in pazienti in crescita non è raccomandato come pratica di routine, sia a causa della crescita scheletrica cui il bambino va incontro sia per l'insufficienza di osso alveolare, che predispone ad un maggiore rischio di fallimento, se paragonato a trattamenti protesici più conservativi. Tuttavia, i dati riportati da diversi Autori (Bergendal et al., 1991; Smith et al., 1993; Cronin et al., 1994), suggeriscono che sia possibile posizionare con successo impianti in pazienti, maschi o femmine di differenti età, affetti da Displasia Ectodermica con ipo-anodonzia congenita, ma che sia necessaria una attenta valutazione individuale dell'osso disponibile.

In genere, i bambini si adattano bene alle protesi e la riabilitazione migliora notevolmente specifici problemi legati all'agenesia dentale: l'aspetto estetico (che diventa più naturale e

piacevole, creando un profilo muscolo-cutaneo più armonico) e, con esso, il quadro psicologico; la fonazione (difettosa in questi pazienti, a causa della difficoltà nell'articolazione di alcuni suoni); la masticazione (con conseguente sviluppo di normali abitudini dietetiche) (Tarian et al., 2005). Questo dato è molto importante, se si considera che la formazione di adeguate abitudini alimentari avvenga proprio durante l'infanzia. Una corretta e precoce riabilitazione orale stabilisce, inoltre, un migliore piano di occlusione, riduce le possibilità di riassorbimento e atrofia delle creste alveolari, migliora la relazione intermascellare sia sul piano sagittale sia verticale durante lo sviluppo craniofacciale (Tarian et al., 2005), fornisce supporto ai tessuti molli (Yavuz et al., 2006; Gardel et al., 1985) e migliora la dimensione verticale di occlusione. Dopo il trattamento, inoltre, i pazienti sembrano più motivati a mantenere una buona igiene orale.

Un importante dato da sottolineare deriva dai risultati degli studi che alcuni Autori hanno effettuato su bambini affetti, per valutare le caratteristiche scheletriche prima e dopo la riabilitazione protesica; tali studi hanno enfatizzato una normalizzazione della crescita mediante il trattamento stesso. Infatti, la rotazione posteriore di mascella e mandibola, associata con lo spostamento verso il basso della mascella, compensa la retrusione e ipotrofia dell'arcata superiore, lo spostamento in direzione anteriore dell'arcata inferiore e la riduzione di altezza facciale (Ruhin et al., 2001; Franchi et al., 1998).

Considerando, quindi, i notevoli vantaggi che la riabilitazione protesica comporta e quanto i bambini si adattino bene ad essa e siano soddisfatti dei risultati, il trattamento dovrebbe essere iniziato precocemente, già all'età di 2-3 anni per pazienti collaboranti.

Protesi fissa

La protesi fissa raramente viene utilizzata come trattamento esclusivo in caso di Displasia Ectodermica, a causa del fatto che molti individui affetti presentano un numero minimo di denti in arcata.

La protesi fissa, inoltre, dovrebbe essere evitata nei soggetti in fase di crescita attiva, poiché i connettori rigidi che la caratterizzano potrebbero interferire con la crescita delle ossa mascellari, specialmente quando il dispositivo attraversa la linea mediana.

Quando si utilizza una protesi fissa, quindi, questa dovrebbe essere separata in due segmenti a livello della linea mediana, per consentire il normale sviluppo scheletrico in senso trasversale. Questa protesi viene utilizzata in quei pazienti che presentano in arcata alcuni elementi dentali, anche di forma conoide che, generalmente, vengono restaurati (**Fig.21, 22**). La difficoltà che si riscontra nel momento in cui viene eseguito un restauro mediante corona protesica deriva dal fatto che, frequentemente, la corona clinica risulta sottodimensionata, mentre la camera pulpare appare molto ampia. Le corone protesiche vengono confezionate singolarmente e possono essere utilizzate sui denti conoidi per stabilire un corretto sottosquadro. Attualmente i restauri diretti in materiale composito rappresentano il metodo migliore per conferire una normale morfologia ai denti ipoplasici.

Corone e restauri diretti in composito sono spesso utilizzati in combinazione con protesi parziali removibili nel trattamento protesico di pazienti displasici, in modo da poter utilizzare tali elementi restaurati come abutments per protesi parziali o per overdentures, favorendone l'ancoraggio e determinando, quindi, un miglioramento della funzione oltre che dell'estetica (Pigno et al., 1996; Lo Muzio et al., 2005).

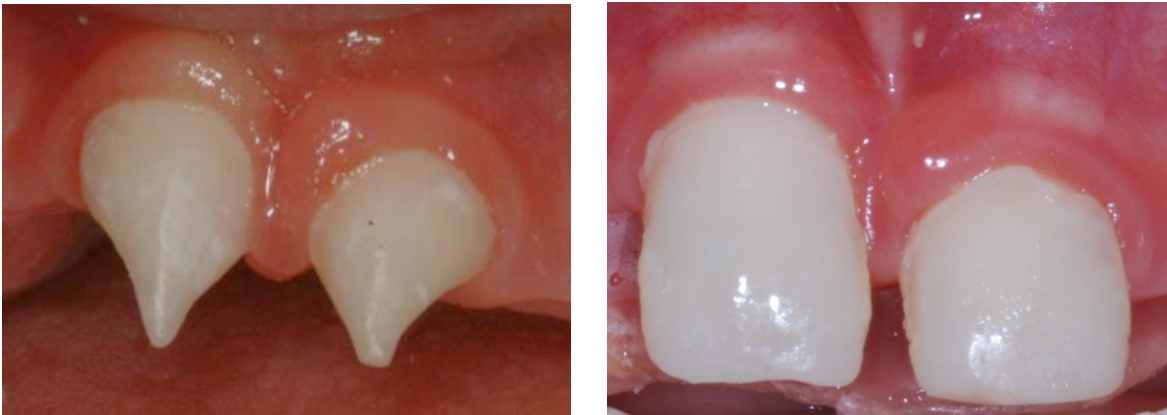


Fig. Restauri in composito a livello degli incisivi centrali

In alcuni casi è necessaria una terapia ortodontica per allineare degli elementi prima di procedere con la riabilitazione protesica.

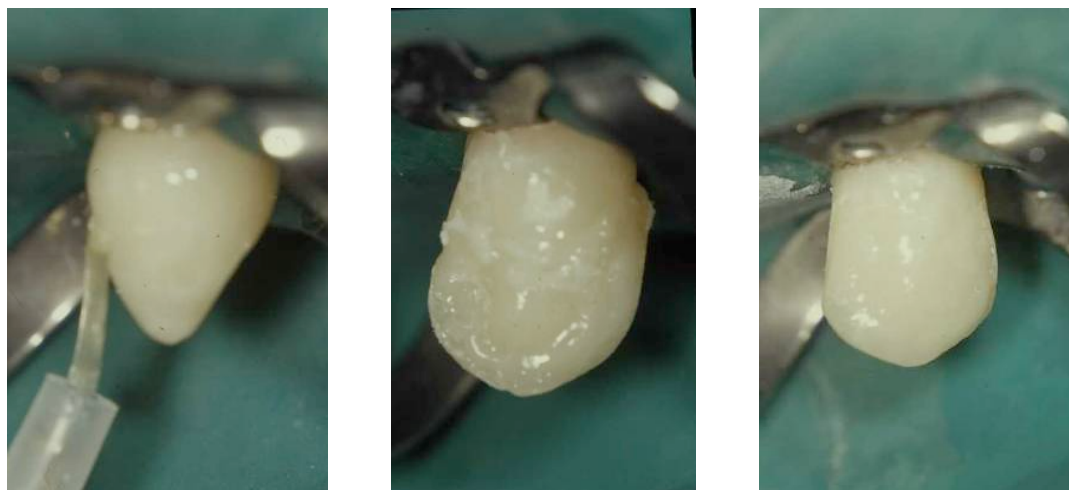


Fig. 22- canino ricostruito in resina composita.

Protesi rimovibile

La protesi rimovibile è la più frequente tipologia di restauro che viene effettuato nei pazienti affetti da Displasia Ectodermica. Dal momento che anodonzia o ipodonzia sono caratteristiche tipiche di questi soggetti, protesi totali, protesi parziali o overdentures fanno parte del trattamento contemplato. L'obiettivo è quello di migliorare l'estetica, la funzione masticatoria e la fonazione.

Sebbene la protesi totale possa fornire risultati estetici e funzionali accettabili, lo scarso sviluppo delle creste alveolari edentule può compromettere la ritenzione e la stabilità della protesi stessa. Quando sono presenti elementi dentali sfruttabili per l'ancoraggio della protesi (quindi in caso di oligodonzia o ipodonzia), l'overdenture rappresenta l'opzione di prima scelta per questi pazienti.

Le overdentures convenzionali presentano una serie di vantaggi in rapporto alle protesi totali ed uno di questi è rappresentato dalla capacità di preservare l'osso alveolare e di mantenere, quindi, un maggiore spessore ed altezza della cresta ossea (Pigmo et al., 1996; Alcam 2006) fondamentale anche in previsione di una futura riabilitazione implantare.

Se viene utilizzata una overdenture, la ritenzione può essere aumentata attraverso attacchi ancorati ai denti disponibili. Nei casi in cui, invece, non ci siano denti disponibili ed il supporto protesico risulti inadeguato, sono state considerate tecniche quali la vestiboloplastica ed il rialzo della cresta ossea per favorire la prognosi della riabilitazione protesica.

Frequentemente, si utilizza un'occlusione lingualizzata per ridurre le forze laterali e creare un'area di contatti intercuspidali con libertà di movimento (Tarjan et al., 2005); le cuspidi linguali dei denti mascellari posteriori sono posizionate a contatto con le fosse dei denti mandibolari, per prevenire interferenze laterali.

La protesi totale ha il vantaggio di poter essere utilizzata sia quando si è in una situazione di agenesia dentale completa sia in presenza di germi evidenziati radiograficamente; in questi casi, al momento dell'eruzione, la protesi viene adattata preparando un'apertura in corrispondenza del dente neoerotto.

Un problema della protesi rimovibile è rappresentato dal fatto che il segmento supportato da mucosa può determinare la formazione di ulcere nella mucosa stessa; essa, tuttavia, non inibisce la crescita ossea, o per lo meno, non così come farebbe una protesi fissa, dal momento che questa viene indossata solo durante il giorno (Prager et al., 2006).

Per facilitare l'adattamento del bambino, diversi studi riportano la necessità di consegnare una protesi alla volta⁽¹¹⁾, in particolare dovrebbe essere utilizzata per prima la protesi costruita per l'arcata con prognosi migliore, per poi integrarla con l'antagonista 2-4 mesi più tardi.

Un fattore importante, necessario per l'adattamento del bambino alla nuova condizione del cavo orale e per la soddisfazione dei genitori, è la presenza di elementi dentali compatibili con l'età del paziente. Ciò è reso possibile grazie all'utilizzo di denti del commercio fabbricati appositamente per pazienti pediatrici (**Fig.23**), che abbiano forma e dimensioni analoghi ai denti decidui di bambini di età, sesso e corporatura analoga a quella del paziente e mediante opportune modificazioni eseguite, sia sui denti naturali presenti in arcata, sia su quelli artificiali, così da ottenere un'estetica appropriata all'età.



Fig. 23- denti del commercio (a destra) e denti per riabilitazioni su pazienti pediatrici (a sinistra).

La posizione e l'occlusione dei denti della protesi vengono valutate intraoralmente.

Con il passare degli anni, nelle nuove protesi verranno montati progressivamente i denti permanenti al posto dei decidui, simulando così la fisiologica permuta.

Fondamentali sono poi i richiami periodici dei giovani pazienti per consentire correzioni o sostituzione delle protesi, in relazione ai continui cambiamenti morfologici del bambino legati a crescita e sviluppo; in tali sedute deve poi essere attentamente monitorata l'occlusione, che va incontro a continue modifiche a causa della crescita delle basi ossee o come conseguenza dell'eruzione di alcuni elementi, che possono creare precontatti.

Il continuo rimaneggiamento delle basi ossee, infatti, costringe a ripetute ribasature delle protesi tanto che, per ovviare a questo problema, alcuni Autori suggeriscono di inserire nelle protesi delle viti centrali di espansione, a tre vie per l'arcata superiore, a due vie per l'inferiore (**Fig.24**), così da consentire un continuo aggiornamento. Non potendo prevedere il momento esatto e l'entità dei picchi di crescita, gli Autori suggeriscono di allargare le viti di un quarto di giro alla settimana; il diastema creato dall'apertura delle viti viene compensato ribasando le protesi con silicone ogni due mesi circa.

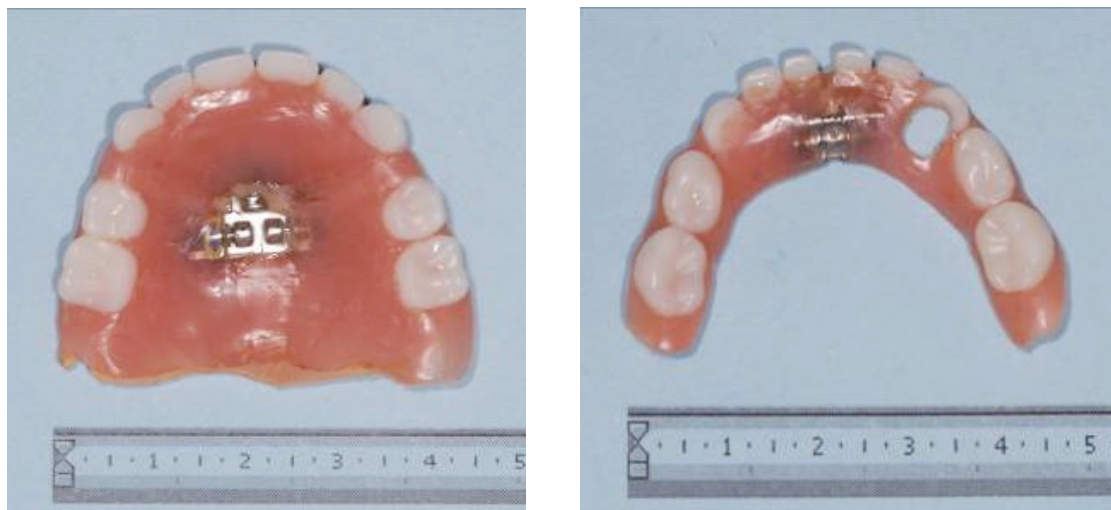


Fig.24- protesi removibili con viti centrali di espansione

L'adattamento del paziente alla nuova condizione dentata può determinare, nei giorni immediatamente successivi alla consegna, difficoltà nella masticazione, nell'articolazione di alcuni fonemi e la perdita della protesi stessa, a causa della sua instabilità; per questi motivi può essere consigliata, nelle fasi iniziali, l'adozione di una dieta soffice e l'utilizzo di paste adesive. Un ulteriore inconveniente può essere dato dal fatto che la lingua non ha esperienza

dei limiti dettati dalle arcate dentarie e deve pertanto essere abituata alla nuova posizione più retrusa, mediante un apposito accorgimento che consiste nel costruire una rilevatezza a livello della papilla interincisiva che ne modifica la postura (**Fig.25**).

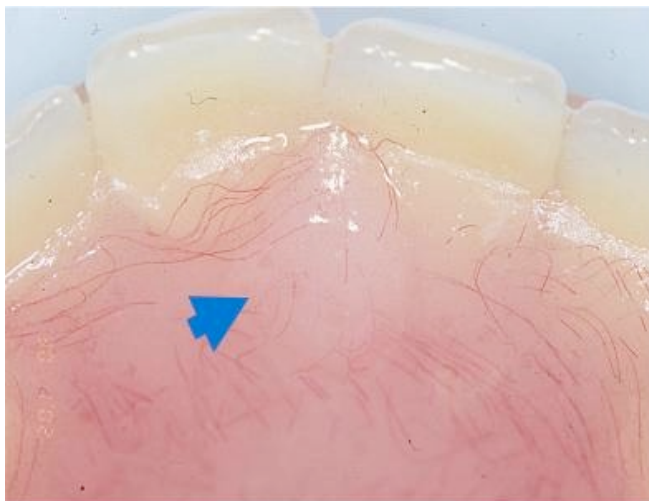


Fig.25- rilevatezza costruita a livello della papilla interincisiva per modificare la postura della lingua.

Le tecniche di costruzione delle protesi removibili sono sovrapponibili a quelle utilizzate per gli adulti e gli ancoraggi, quando presenti, sono costituiti da ganci a filo (**Fig.26**).

Questa tecnica rappresenta un metodo piuttosto semplice, rapido e ben accettato per riabilitare un bambino, parzialmente o totalmente edentulo, sia dal punto di vista estetico che funzionale (Papa-Valleyo et al., 2008).

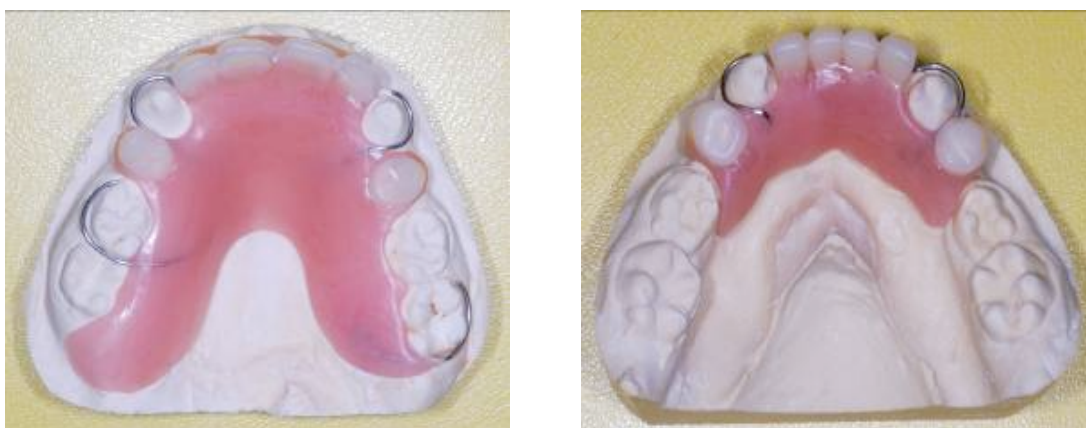


Fig.26- Protesi parziali removibili con ganci a filo

Ortodonzia

L'ortodonzia nei pazienti affetti da Displasia Ectodermica ha lo scopo di allineare i denti per migliorare l'estetica e determinare una distribuzione pre-protetica ideale degli elementi disponibili (**Fig.27**); mira, inoltre, al ripristino dei corretti rapporti verticali e sagittali, spesso alterati a causa dell'oligodonzia o anodonzia, del prognatismo mandibolare e retrognatismo mascellare (frequentemente riscontrati in questi pazienti), che portano l'occlusione verso una terza classe di Angle. L'uso di apparecchi ortodontici funzionali è quindi molto importante per influenzare positivamente lo sviluppo craniofacciale e ridurre le anomalie prima del termine della crescita (Crump et al., 1971). Si possono, inoltre, raggiungere risultati apprezzabili anche mediante l'utilizzo della maschera di Delaire.

Inoltre i rapporti tra i molari, quando presenti, sono spesso in cross-bite e può, pertanto, essere necessaria una loro correzione.

In caso di agenesia moderata, il trattamento può essere effettuato per chiudere diastemi o spazi, mentre in caso di agenesia severa, l'ortodonzia consente il mantenimento o l'incremento di spazio per il successivo inserimento di impianti o protesi. Potrebbe potenzialmente essere possibile sfruttare il potere osteogenetico creato dalle trazioni ortodontiche.



Fig.27- Bracketts ortodontici su elementi conoidi e su protesi parziale rimovibile.

L'ortodonzia, tuttavia, non è praticata molto frequentemente nei pazienti con displasia, a causa sia del ridotto numero di denti, sia dell'incremento di rischio di carie che un dispositivo fisso comporta in pazienti già di per sé suscettibili a tale patologia, come conseguenza della diminuita salivazione.

Talvolta, la chirurgia ortognatica può essere proposta a pazienti che presentano una grave alterazione dei rapporti intermascellari. In particolare, è stato supposto che l'osteotomia tipo "Le Fort 1", che ristabilisce una normale relazione tra le arcate, possa stimolare la crescita mascellare (Ruhin et al., 2001). Si tratta, tuttavia, di un intervento piuttosto aggressivo in un paziente in crescita.

In letteratura non esistono numerosi studi relativi alla chirurgia ortognatica in pazienti affetti da Displasia Ectodermica.

Protesi implantare

La riabilitazione orale mediante protesi rimovibili viene in genere eseguita durante il periodo in cui il paziente è in fase di crescita, mentre gli impianti rappresentano il trattamento di elezione quando la crescita è terminata (Guckes et al., 1991; Kearns et al., 1999). Il trattamento protesico dei pazienti con severa ipodonzia presenta notevoli problemi (Ekstrand & Thomsson, 1988). La distribuzione irregolare e la morfologia conica degli elementi dentari associata alla presenza di creste alveolari notevolmente riassorbite (definite "a lama di coltello") riduce la stabilità e la ritenzione della protesi convenzionale (Oesterle, 2000; Kramer et al., 2007).

Data l'assenza del legamento parodontale, gli impianti posizionati in soggetti in età evolutiva non seguono la crescita delle basi craniche e delle ossa mascellari, comportandosi come elementi dentari anchilosati e determinando di conseguenza problematiche funzionali ed estetiche (Sennerby et al., 1993; Oesterle, 2000; OpHeji et al., 2000).

La letteratura dimostra che, negli ultimi decenni in particolare, gli impianti endossei sono stati estesamente utilizzati nel trattamento protesico di pazienti affetti da Displasia Ectodermica (Sweeney et al., 2005; Alcan et al., 2006; Guler et al., 2005; Bergendal et al., 1991).

Guckes et al. (1991), nel corso di uno studio clinico effettuato per conto del National Institutes of Health, hanno riportato una percentuale di successo degli impianti del 90% in pazienti affetti da Displasia Ectodermica di età compresa tra i 13 e i 69 anni; questo valore si avvicina molto a quello del 95% riscontrato nello stesso studio per pazienti non displasici. Tuttavia uno studio, comparando la percentuale di successo implantare in pazienti in età evolutiva sani e affetti da Displasia Ectodermica, riporta un alte percentuali di fallimento in questi ultimi pazienti (Bergendal et al., 2008). Il fallimento in bambini sani era solo leggermente superiore

a quello riportato in pazienti adulti (6.1%), mentre in pazienti affetti da Displasia Ectodermica con anodonzia mandibolare mostravano valori molto più alti (64.3%). Questo dato potrebbe essere causato dall'utilizzo di impianti di diametro eccessivo rispetto alle strutture ossee che dovevano accoglierli oppure al fatto che questi impianti erano collegati tra di loro tramite una bassa impedendo la crescita mandibolare in zona posteriore e anteriore. Comunque il dato deve essere attentamente valutato considerando il fatto che nello studio solo 5 bambini con ED erano stati trattati per cui è necessario un campione più rappresentativo. Le piccole dimensioni della mandibola e la qualità ossea che a volte può essere scarsa sono considerate le principali cause di fallimento implantare in pazienti con ED (Bergendal et al., 2008).

Il principale problema menzionato era l'angolazione labiale degli impianti, a causa dell'esiguo spessore della cresta alveolare. In seguito, diversi altri Autori hanno evidenziato situazioni in cui impianti endossei sono stati utilizzati con successo nella riabilitazione della Displasia Ectodermica.

Gli articoli presenti in Letteratura che prendono in esame il posizionamento di 2 o più impianti in mandibola anteriore riportano la connessione degli impianti tra loro con una barra fusa per migliorare la loro stabilità sotto le forze masticatorie (Smith et al., 1993). Non si conoscono gli effetti del carico masticatorio su impianti singoli utilizzati a supporto di protesi totali inferiori.

Questo tipo di protesizzazione rappresenta oggi l'obiettivo da raggiungere; molti studi, infatti, indicano un significativo miglioramento funzionale (poiché aumenta la stabilità e la ritenzione della protesi) ed un maggiore benessere psicologico, quindi un miglioramento della qualità di vita, in pazienti adulti riabilitati con una protesi supportata da impianti, rispetto alla loro condizione prima del posizionamento implantare o se paragonati ad un gruppo di controllo portatore di protesi totale (Pigno et al., 1996; Van Waas et al., 1993). Un'altra ragione importante per la quale considerare gli impianti dentali nel trattamento della patologia è l'impatto positivo che possono avere sulla preservazione dell'osso alveolare. Alcuni Autori sostengono che gli impianti, oltre a conservare l'osso alveolare, generano un'attiva osteogenesi, grazie al fatto che determinano una trasmissione delle forze masticatorie alle strutture ossee mascellari più corretta (Ruhin et al., 2001; Wan Wowerm et al., 1993). Come già affermato precedentemente, le creste alveolari di questi pazienti sono sottosviluppate, ma, nonostante questo, hanno l'importante compito di supportare una protesi per tutta la vita. Per tali motivi, quando possibile, è bene attuare tutte le misure volte a limitare il riassorbimento

osseo e promuoverne la neoformazione, soprattutto nei pazienti con totale anodonzia. Se la ridotta funzione masticatoria secondaria alla perdita dei denti è un fattore determinante nella dismorfosi del massiccio facciale, si può ipotizzare che pazienti in età evolutiva affetti da ED riabilitati con protesi impiantare dovrebbero mostrare dei valori cefalometrici simili a quelli della popolazione sana. Il corretto carico masticatorio indotto da una riabilitazione implanto-protetica sembra, in lieve misura, normalizzare la crescita facciale (Johnson et al., 2002). Dato che la crescita cranio-facciale è per lo più completata nella tarda adolescenza, è stato ipotizzato che gli impianti debbano essere inseriti precocemente per permettere loro di modulare e normalizzare la crescita per effetto di un miglioramento dei carichi masticatorio.

La crescita mandibolare e l'inserimento di impianti

La mandibola è costituita da osso basale (corpo, ramo e sinfisi) ed osso alveolare; inoltre sono presenti tre processi: il condilo, il processo coronoideo, l'angolo. Björg & Skieller (1972) hanno dimostrato che la crescita della mandibola presenta una componente di rotazione in avanti che corrisponde a circa 6 gradi e che è dovuta all'accrescimento del condilo e del ramo mandibolare.

L'influenza dell'edentulismo sulla crescita mandibolare non è ancora ben conosciuto, tuttavia è evidente la mancanza o la riduzione del processo alveolare per l'assenza di germi dentali in eruzione (Sarnas et al., 1983).

La presenza di agenesie multiple influenza notevolmente la crescita cranio-facciale e l'estetica del viso del soggetto. Una normale funzione masticatoria potrebbe aiutare al mantenimento ed alla formazione di osso a livello dei mascellari superiore ed inferiore (Graber et al., 1994; Johnson et al., 2002).

Durante la crescita della mandibola i denti compensano la rotazione erompendo e inclinandosi, ma questo processo non può essere messo in atto dagli impianti che si comportano come denti anchilosati. Il risultato è che a distanza di anni dal loro inserimento gli impianti posizionati in mandibola anteriore si possono trovare inclinati verso la lingua (Becktor et al., 2001). La crescita verticale della mandibola, dovuta all'eruzione di elementi dentari presenti, e la rotazione in avanti sembrano essere i fattori limitanti all'inserimento di impianti in soggetti in crescita. Nei pazienti edentuli non sussiste, tuttavia, il problema degli

elementi in eruzione e la variazione dell'inclinazione degli impianti può essere facilmente risolta durante il follow-up modificando la protesi.

Il rimodellamento della mandibola non sembra avere un effetto negativo sugli impianti perché l'apposizione di nuovo osso avviene a livello del condilo, della parte posteriore del ramo e della faccia inferiore della sinfisi, mentre il processo di riassorbimento si verifica a livello dell'angolo e della superficie e anteriore linguale del ramo (Krarup et al., 2005).

La crescita mascellare e l'inserimento di impianti

La crescita mascellare è molto più complessa della crescita mandibolare ed il risultato finale degli impianti è difficile da prevedere.

Le variazioni a carico del mascellare si possono suddividere in una fase di avanzamento e di una fase di allargamento.

L'avanzamento passivo è dovuta alla crescita in avanti e in basso della base cranica e delle suture del terzo medio del viso (Björk et al., 1977).

L'espansione, invece, si suddivide in una componente verticale, sagittale e trasversale:

- Espansione verticale: è dovuta all'eruzione di elementi dentari eventualmente presenti in arcata, che determinano la crescita del processo alveolare. Si verifica, inoltre, un rimodellamento del palato con riassorbimento della superficie superiore e l'apposizione di nuovo osso su quella inferiore che determina un allargamento delle cavità nasali.
- Espansione sagittale: la crescita della mascella verso l'osso palatino sembra essere dovuta all'apposizione di osso a livello delle tuberosità.
- Espansione trasversale: si verifica a livello della sutura palatina mediana per apposizione di nuovo osso; per questo ogni connessione rigida che supera la linea mediana deve essere assolutamente evitata (Björk et al., 1977).

Età in cui inserire gli impianti

Il posizionamento di impianti in pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica richiede l'intervento di un team composto da chirurgo, pedodontista, protesista e ortodontista. Non esistono linee guida riguardo l'età ideale di inserimento degli impianti (Johnson et al., 2002). La maggior parte degli articoli in Letteratura che si occupano di riabilitazione impiantare è costituito da case reports.

Alcuni Autori (Guckes et al., 1991) raccomandano di posporre l'inserimento di tali dispositivi dopo i 13 anni, a causa della migrazione degli stessi prima di questa età, dovuto alla crescita delle basi ossee. Nel 1989, la "Consensus Conference on Implantology" ha concluso che gli impianti non dovrebbero essere posizionati prima che sia avvenuta la massima crescita mandibolare (attorno ai 15 anni).

Altri studi sono concordi con il criterio di attesa della massima crescita delle basi scheletriche, ma propongono una differenziazione secondo il sesso del paziente: 14-15 anni per le femmine e un anno più tardi per i maschi e raccomandano, in ogni caso, di studiare la curva di crescita individuale prima di procedere con la terapia implantare (Pigno et al., 1996). Dopo i 20 anni le differenze legate al sesso diminuiscono gradualmente.

Alcuni studi dimostrano che gli impianti posizionati nelle ossa mascellari di maiali in crescita non si comportano come i denti normali, ma vengono presto sommersi dall'osso; da questo si può desumere che gli impianti in pazienti pediatriche dovrebbero comportarsi in maniera simile. C'è una correlazione tra la crescita della faccia e la crescita staturale. Tuttavia, mentre la crescita staturale si interrompe, la crescita della faccia in altezza sembra continuare dopo la pubertà (Fudalej et al., 2007)

Ulteriori ricerche giungono alla conclusione che gli impianti non dovrebbero essere posizionati prima che la dentizione permanente sia completamente erotta; altri concordano con questo concetto, ma non escludono la possibilità di inserire impianti, anteriormente ai canini, nei bambini con totale o parziale anodonzia.

Alcuni Autori valutano le possibili conseguenze che il posizionamento implantare precoce può avere e alla fine sottolineano che, quando l'inserimento viene effettuato al termine della crescita o comunque nel periodo post-puberale, le probabilità di successo sono maggiori, concludendo, quindi, che queste procedure dovrebbero essere effettuate dopo i 15 anni per le femmine ed i 18 anni per i maschi per avere una maggiore prevedibilità di prognosi.

Le possibili conseguenze di un posizionamento implantare precoce includono: la sommersione dell'impianto nell'osso a causa della crescita dei mascellari, l'esposizione dell'impianto a causa dell'assorbimento osseo associato ai mutamenti tridimensionali delle basi scheletriche in crescita, il movimento implantare e la limitazione della crescita mascellare e mandibolare se gli impianti sono connessi da una protesi rigida che attraversa la linea mediana.

Nonostante questi possibili problemi, sono molti a sostenere la riabilitazione implantare in giovani pazienti parzialmente o totalmente edentuli, sottolineando che non è l'età cronologica del paziente, ma la maturità dento-scheletrica ad essere importante per evitare conseguenze spiacevoli (Goepferd et al., 1981; Percinoto et al., 1991).

Dalla ricerca bibliografica si evince, quindi, che non esiste un'età precisa in cui sia corretto inserire gli impianti, ma che un'attenta valutazione è necessaria nel caso debba essere riabilitato un paziente giovane, per via delle possibili complicità che derivano, oltre che dalla crescita scheletrica, anche dalla scarsa qualità dell'osso e dalle difficoltà tecniche conseguenti all'atrofia crestale. Sono necessarie ulteriori ricerche per determinare sia delle linee guida, sia la reale efficacia del concetto di "implantologia preventiva" nel mantenimento dell'osso alveolare. Non è quindi l'età anagrafica a determinare il momento in cui possono essere inseriti gli impianti, ma la maturità dento-scheletrica.

Anche se la maggioranza degli studi sottolinea la pericolosità di un piano di trattamento implantare in soggetti in crescita, la necessità funzionale e psico-sociale di assicurare a questi giovani pazienti protesi stabili e confortevoli, ha spinto i ricercatori ad analizzare meglio il problema.

Esistono in Letteratura casi di impianti posizionati molto precocemente, con l'obiettivo di favorire la crescita ossea innescata dal nuovo carico oclusale e aumentare la stabilità e la ritenzione della protesi (Tarjan et al., 2005). Becktor et al (2001) riportano il caso di 4 impianti mascellari e 4 mandibolari applicati ad un bambino di 8 anni, mentre sconsigliano la riabilitazione implantare prima dei 6 anni, a causa delle condizioni sfavorevoli (età troppo bassa, osso alveolare estremamente sottile).

Un dato molto positivo deriva da uno studio in cui è stato misurato lo spostamento osseo e degli impianti in esso inseriti, in una fascia di età compresa tra i 9 ed i 20 anni, che dimostra come gli impianti posizionati precocemente seguano la crescita ossea, spostandosi parallelamente (Guckes et al., 1997; Becktor et al., 2001) (**Fig.28**). Kearns et al.,(1999) riportano che gli impianti posizionati in mandibola anteriore avanzano seguendo la direzione di crescita e mantenendo la loro relazione originale con l'osso alveolare sul piano sagittale e trasversale, questo perché la crescita mandibolare avviene prevalentemente a livello dei condili e del ramo. Gli impianti posizionati nel mascellare superiore rimangono nella stessa posizione sul piano sagittale e trasversale durante la crescita del paziente.

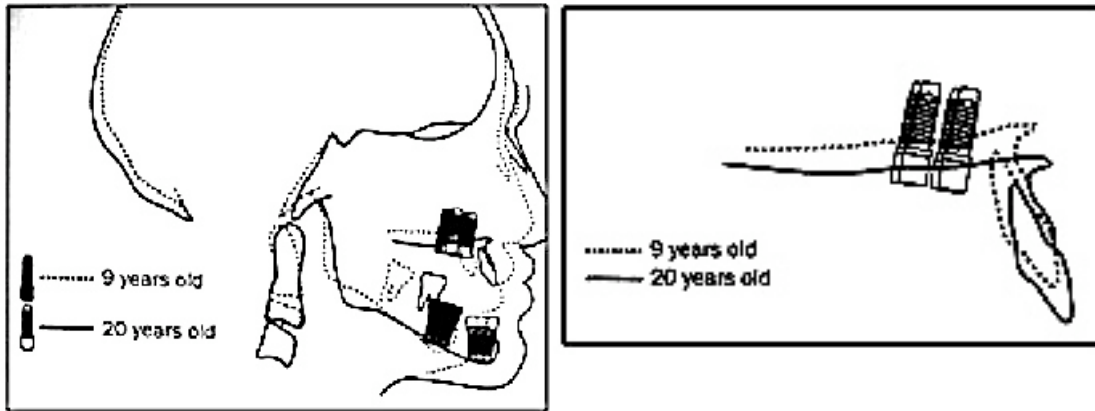


Fig.28- mutamenti scheletrici e spostamenti implantare dai 9 ai 20 anni (Becktor et al., 2001)

L'altezza e lo spessore osseo, tuttavia, possono risultare insufficienti al posizionamento degli impianti; questo è un problema che molto spesso affligge i pazienti affetti da Displasia Ectodermica e che ha reso necessario lo studio di metodiche alternative, allo scopo di evitare interventi chirurgici particolarmente complessi. Una di queste tecniche è rappresentata dall'utilizzo di impianti transzigomatici, che devono essere integrati da almeno 2 impianti tradizionali posti nel settore anteriore (Pennarocha-Diago et al., 2004)). Il loro utilizzo permette di evitare interventi di rialzo di seno con innesti ossei dalla cresta iliaca, che sono ben più invasivi e che richiedono ricovero ospedaliero.

Altra metodica utilizzata oggi abbastanza frequentemente per ovviare al problema dello spessore osseo insufficiente, è l'osteodistrazione alveolare. Si tratta, quindi, di tecniche che offrono un'alternativa alla protesi rimovibile in tutti i casi in cui l'implantologia tradizionale non è praticabile, soprattutto nei casi di ipodonzia severa.

Problematiche legate a un inserimento implantare troppo precoce

Il posizionamento implantare troppo precoce:

- Può portare alla migrazione degli impianti a causa della crescita delle basi ossee e dei mascellari determinando una loro infraocclusione oppure una loro esposizione (Sennerby et al., 1993). Il riassorbimento del mascellare superiore, del pavimento nasale e della premaxilla può determinare la dislocazione degli impianti in senso anteroposteriore e verticale (Oesterle et al., 2000). Kearns et al. riportano, invece, casi in cui il problema del dislocamento nel mascellare superiore non è stato incontrato, probabilmente perché, l'assenza di elementi dentari in eruzione riduce notevolmente la

crescita del processo alveolare col risultato che la posizione implantare è influenzata solamente dalla crescita della sutura palatina;

- Può interferire con la posizione e l'eruzione dei germi di denti eventualmente presenti in zone limitrofe (Rossi & Andreasen, 2003; Thilander et al., 1992);
- Può portare alla infraocclusione dell'impianto a causa della crescita dei mascellari sul piano sagittale e trasversale (Kramer et al., 2007; Thilander et al., 1992). Questo fenomeno è più critico nelle zone estetiche e nelle zone limitrofe a denti in eruzione per effetto della crescita del processo alveolare (Becktor et al., 2001);
- Può provocare l'incarceramento del mascellare superiore e inferiore se gli impianti vengono collegati tra loro con una barra e superano la linea mediana. Questo fenomeno si verifica perché viene impedita la crescita trasversale a livello della sinfisi e della sutura palatina (Cronin & Oesterle 1998). Nella mandibola, tuttavia, la crescita trasversale e i cambiamenti alveolo-dentali sono meno drammatici rispetto al mascellare superiore. L'uso di protesi che connettono tra loro gli impianti mascellari superando la linea mediana può, quindi, alterare o bloccare la crescita trasversale. Per evitare questo problema tutte le protesi superiori presentano una barra separata a livello della linea mediana e gli impianti vengono inseriti nella premaxilla per permettere la crescita a livello della sutura palatina.

La crescita trasversale a livello della sinfisi sembra essere meno rilevante perché questo centro di crescita ha già svolto la maggior parte della sua funzione entro i primi 6 mesi di vita o comunque durante le prime fasi dell'infanzia (Cronin et al., 1994; Skieller et al., 1984).

Nella mandibola posteriore la crescita avviene principalmente nella tarda infanzia in senso antero-posteriore, trasversale e verticale (Enlow, 1990). Inoltre è presente una crescita di tipo rotazionale della mandibola che comporta modifiche verticali (Enlow, 1990; Skieller et al., 1984).

Nella zona anteriore di una mandibola edentula la crescita alveolare appare ridotta (Oesterle, 2000). Principalmente la crescita trasversale della mandibola si verifica precocemente durante l'infanzia e la crescita antero-posteriore si verifica soprattutto in mandibola posteriore (Skieller et al., 1984; Krarup et al., 2005).

La regione mandibolare anteriore rappresenta la sede più idonea al posizionamento implantare in pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica.

Il trattamento con impianti in mandibola anteriore non interrompe la normale crescita cranio-facciale (Johnson et al., 2002). Tuttavia a lungo termine gli impianti potrebbero essere influenzati dalla crescita rotazionale della mandibola e si potrebbe verificare un cambio nella loro angolazione (Becktor et al., 2001).

Raccomandazioni per l'inserimento di impianti in pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica:

- 1) In questi pazienti gli impianti possono essere utilizzati, protesizzati e caricati con successo fornendo una adeguata ritenzione della riabilitazione sovrastante;
- 2) Gli impianti, una volta inseriti si comportano come denti anchilosati quindi non seguono l'eruzione di denti contigui eventualmente presenti e possono quindi essere sommersi dall'osso alveolare in crescita;
- 3) L'inserimento di impianti in soggetti in età evolutiva può richiedere procedure chirurgiche aggiuntive come innesti d'osso, rialzo di seno mascellare rendendo più difficoltoso l'intervento e aumentando la morbidità (Kearns et al., 1999);
- 4) Sulla base degli studi di Bjork e Skieller è prudente dividere la protesi superiore a livello della linea mediana per consentire la crescita a livello della premaxilla e della sutura palatina. In mandibola è, invece, consigliato l'inserimento di impianti nella zona anteriore per evitare di interferire con la crescita trasversale;
- 5) Le protesi devono essere attentamente monitorate e modificate nel tempo a causa dell'eruzione di elementi dentari eventualmente presenti e della crescita dei mascellari

CAPITOLO 3

Obiettivo dello Studio

L'oligo-anodonzia, tipica della Displasia Ectodermica, comporta la mancata o ridotta formazione del processo alveolare tale per cui, nelle aree edentule, le creste alveolari risultano atrofiche, con conseguente riduzione di dimensione verticale del terzo inferiore del viso e tendenza alla terza classe scheletrica. L'oligo-anodonzia rappresenta, quindi, una grossa menomazione sia sotto il profilo funzionale (problemi di masticazione e fonazione), sia sotto il profilo psicologico (aspetto diverso dai coetanei e rischio di isolamento). La riabilitazione precoce di questi pazienti appare fondamentale sia da un punto di vista funzionale, per migliorare la masticazione e la crescita del massiccio facciale, sia per favorire l'integrazione sociale.

Da più di 10 anni questi pazienti in età evolutiva sono stati riabilitati presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche (Servizio di Odontoiatria per Disabili), con protesi mobili totali o parziali superiori e inferiori che hanno permesso loro un sensibile miglioramento della qualità della vita.

Obiettivo del presente lavoro è:

- Presentare la tecnica riabilitativa impiegata da più di 10 anni presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili per ripristinare la funzione masticatoria, fonatoria e l'estetica di pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica.
- Valutare, attraverso il confronto con un gruppo di controllo composto da pazienti sani, di età analoga e con una relazione interdentale di classe I, la crescita e lo sviluppo cranio-facciale di pazienti affetti da Displasia Ectodermica in età evolutiva riabilitati protesicamente presso la nostra struttura.
- Valutare quanto le agenesie dentali possano influire sullo sviluppo cranio-facciale.
- Presentare il protocollo di ricerca che è stato messo in atto per riabilitare pazienti con oligo-anodonzia mediante overdentures inferiori supportate da impianti di diametro ridotto.

CAPITOLO 4

Materiali e Metodi

Linee guida per la riabilitazione con protesi mobili utilizzate presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili.

Protocollo operativo

- Esame obiettivo intra ed extraorale.
- Documentazione fotografica.
- Esecuzione dell'Ortopantomografia delle arcate dentarie. e della teleradiografia del cranio in proiezione latero-laterale.
- Rilevamento delle impronte in alginato e sviluppo dei modelli di studio.
- Realizzazione dei portaimpronte individuali e presa dell'impronta definitiva.
- Registrazione dei rapporti intermascellari.
- Prova del montaggio dei denti del gruppo frontale.
- Prova del montaggio dei denti diatorici.
- Finalizzazione del manufatto protesico e valutazione dei contatti occlusali.
- Consegna delle protesi al paziente e istruzioni per una corretta conservazione
- Follow-up e ribasature con resina morbida
- Inserimento delle viti di espansione
- Esecuzione della teleradiografia latero-laterale con piano di bario

Esame obiettivo

Dopo aver conquistato la fiducia del bambino, i pazienti sono sottoposti esame obiettivo extraorale allo scopo di valutare le caratteristiche somatiche indicative di Displasia Ectodermica ed a esame obiettivo intraorale allo scopo di evidenziare il numero, la forma e la posizione degli elementi dentali presenti in arcata.

Vengono fornite istruzioni all'igiene orale ed viene valutata la compliance del paziente.

Documentazione fotografica

Si eseguono fotografie extraorali (frontale, lateralità destra e sinistra, terzo inferiore destro e sinistro), fotografie intraorali (occlusale superiore e inferiore)

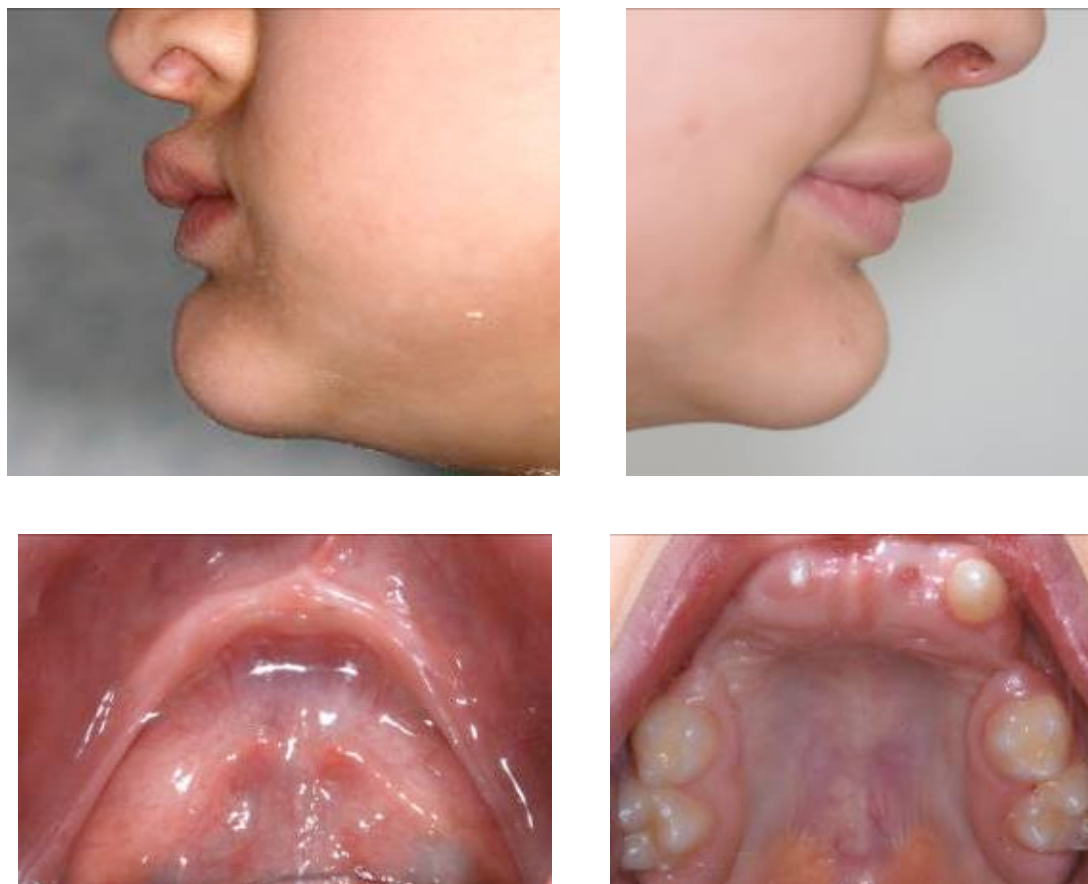


Fig.29- Fotografie del terzo inferiore del viso e fotografie intraorali

Esecuzione e valutazione delle ortopantomografie

L'Ortopantomografia (OPT) è un'indagine radiografica extraorale che consente la scomposizione planare di strutture con morfologia grossolanamente sferica, che vengono artificialmente allineate sul piano del radiogramma, mentre la messa a fuoco è regolata mediante un comando di profondità. L'OPT associa due principi tecnici: la radiografia a fessura e la zonografia. Un collimatore a fessura riduce il fascio di radiazioni emesso dal tubo radiogeno ad un ventaglio sottile, mentre l'oggetto da radiografare viene esposto al fascio di radiazioni in fasi successive mediante uno spostamento dell'insieme "tubo radiogeno-cassetta radiografica" secondo un arco di cerchio, in modo da realizzare una stratigrafia a strato spesso o "zonografia". Vengono utilizzate pellicole da 15x24 cm, con schermi di rinforzo. Gli

Ortopantomografi di ultima generazione hanno un centro “radiante-rotante”, il quale descrive un tracciato che segue la curvatura anatomicamente corretta dei mascellari, iniziando e terminando l’escursione del sistema tubo-cassetta in una sola rotazione e al di fuori degli angoli mandibolari. L’ingrandimento è minimizzato (si aggira attorno al 20% variando a seconda delle apparecchiature) ed è costante su tutta la pellicola. L’ortopantomografia presenta evidenti vantaggi che ne giustificano l’ampia diffusione: è, infatti, un’utile metodica di screening che consente una rapida valutazione dello status dentario, dei processi alveolari e dei mascellari (De Florio et al., 2001)).

Le OPT sono valutate, congiuntamente ai modelli in gesso e all’esame obiettivo, allo scopo di definire la formula dentaria, gli spessori ossei e quindi il grado di agenesia (**Fig.30**).



Fig.30- Ortopantomografia di paziente affetto da Displasia Ectodermica

Impronte in alginato

Vengono rilevate impronte in alginato delle arcate mediante portaimpronte del commercio (i più piccoli disponibili) che sono poi colate in gesso (**Fig.31**). Vengono realizzati quindi i modelli di studio utili per ottenere i portaimpronte individuali.

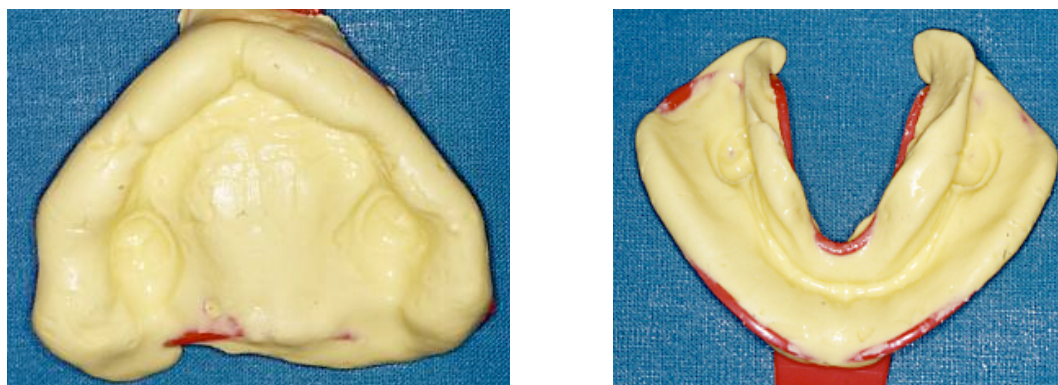


Fig.31- Impronte in alginato utilizzando i portaimpronte più piccoli reperibili in commercio.

Impronte definitive

Dopo aver ottenuto i modelli di studio vengono realizzati i portaimpronte individuali superiori e inferiori in resina fotopolimerizzabile (**Fig.32**).

Successivamente viene applicato su ogni portaimpronte l'adesivo e sono prese le impronte definitive in polisolfuro (Permlastic Regular, Kerr, Orange, CA, USA) (**Fig.33**). Le impronte definitive vengono colate in gesso tipo IV e vengono realizzati i modelli master (**Fig.34**).

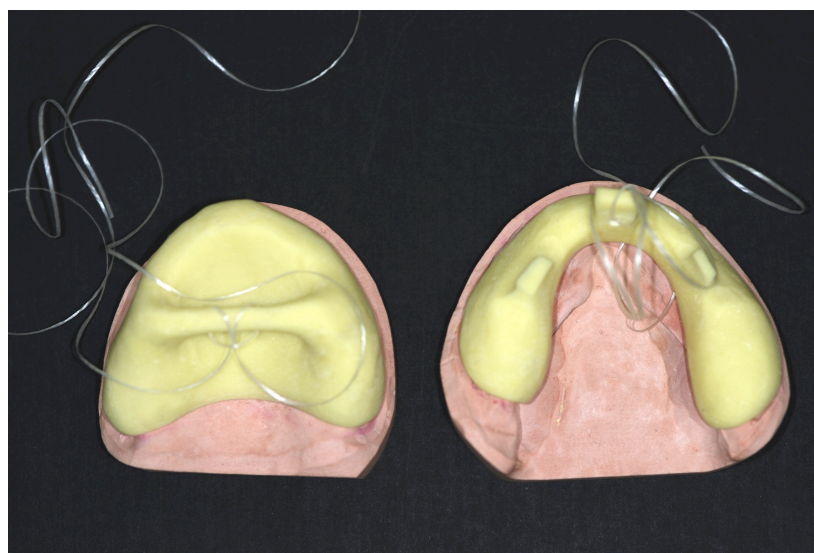


Fig.32- Esecuzione dei portaimpronte individuali con filo di sicurezza



Fig.33- Impronte definitive in polisolfuro



Fig.34- Modelli master con cui verranno realizzate le basi di registrazione coi valli in cera

Registrazione dei rapporti intermascellari

Dopo aver colato i modelli master sono realizzate le basi di registrazione superiore e inferiore con i valli in cera proporzionalmente ridotti di dimensioni considerando la giovane età del paziente. La registrazione dei rapporti intermascellari è rilevata inserendo le basi in bocca al paziente, dopo averle legate con filo interdentale per evitare una eventuale ingestione (**Fig. 35**). Quindi viene valutato il parallelismo tra il vallo superiore e il piano di Camper e la linea bipupillare, utilizzando un piano di Fox proporzionalmente ridotto in dimensioni (**Fig.36**). Successivamente il vallo inferiore viene ridotto in altezza fino a raggiungere la dimensione verticale più idonea al paziente basandosi su valutazioni estetiche e fonetiche. La linea

mediana e la linea del sorriso vengono marcate per dare maggiori informazioni al tecnico e per migliorare il risultato estetico.



Fig.35- Registrazione coi valli in cera inseriti



Fig.36- Registrazione dei rapporti intermascellari con piano di Fox

Prova di montaggio dei denti del gruppo frontale

I modelli master con i valli in cera sono montati sull'articolatore e sono montati i denti frontali utilizzando elementi dentari in resina presenti in commercio opportunamente realizzati per le protesi in pazienti in età evolutiva (BambinoTooth, Major) (**Fig.37**). Sono, quindi, effettuate le valutazioni estetiche in presenza dei genitori, che possono fornire utili consigli, e le valutazioni fonetiche (consonanti labiodentali e fricative) per valutare la posizione degli elementi dentari rispetto alle labbra.



Fig.37- Prova di montaggio del gruppo frontale

Prova di montaggio dei denti diatorici

All'appuntamento successivo vengono montati anche i denti posteriori (**Fig.38**), quindi si valuta l'articolazione utilizzando carta da articolazione chiedendo al paziente di chiudere diverse volte la bocca in massima intercuspidação. Quindi vengono fatti i test della digitopressione e i movimenti eccentrici con valli in cera inseriti in bocca, per valutare la stabilità della protesi e il corretto posizionamento dei denti posteriori.



Fig.38- Prova del montaggio dei denti posteriori e valutazione dei contatti occlusali

Finalizzazione del manufatto protesico e valutazione dei contatti occlusali

Alla seduta successiva, dopo aver attentamente valutato la posizione dei denti anteriori e posteriori, sono finalizzate le protesi in resina mettendole in muffola. Quindi sono rifinite e lucidate con pasta pomice e successivamente provate in bocca al paziente (**Fig.39**).

Con la carta da articolazione sono nuovamente valutati i contatti occlusali in centrica, in protrusione e in lateralità per determinare la stabilità della protesi, che in genere soprattutto in quella inferiore, appare molto limitata.

Se sono presenti dei denti in arcata possono essere inseriti all'interno della protesi dei ganci di Adams che vanno ad abbracciare l'elemento presente e permettono un miglioramento della stabilità e della ritenzione (**Fig.40**).

Questi ganci vengono valutati ad ogni seduta di follow-up e se necessario vengono riattivati per garantire una certa stabilità alla protesi.

Il posizionamento di questi ganci aumenta il comfort e incentiva il paziente ad indossare la protesi.



Fig.39- Finalizzazione della protesi che viene subito fatta indossare al paziente



Fig.40- Protesi con ganci di Adams inseriti sui canini inferiori e sui molari superiori

Consegna delle protesi al paziente

Una volta valutati i contatti occlusali, il risultato estetico e scaricato le zone dolenti, sono consegnate le protesi al paziente.

Soprattutto per i pazienti più piccoli può essere molto difficile l'accettazione del manufatto protesico, questo anche a causa della scarsa ritenzione delle protesi dovuta alla presenza di creste lamellari. Per questo motivo spesso vengono consegnate le protesi in periodi differenti, prima la superiore perché più stabile e dopo qualche mese la protesi inferiore. In questo modo il paziente può adattarsi meglio alla nuova condizione orale.

Dopo la consegna delle protesi il paziente presenta spesso difficoltà nella fonazione e nella masticazione con notevole scialorrea. Queste problematiche iniziali spesso scoraggiano il bambino. Per questo motivo nelle sedute successive è necessario motivare ed incentivare il paziente ad indossare la protesi per il maggior tempo possibile durante l'arco della giornata e a togliere la protesi solo di notte per evitare un trauma compressivo alle mucose. Con il passare del tempo, e grazie alla grande capacità di adattamento dei pazienti, le problematiche appena esposte vengono gradualmente superate.

Tutti i pazienti al momento della consegna delle protesi sono invitati a portare la protesi per periodi di tempo via via crescenti iniziando ad indossarla nei momenti di gioco e relax, poi durante la scuola o l'asilo e durante l'alimentazione, prima liquida poi con cibi sempre più fibrosi.

I genitori e lo stesso paziente vengono istruiti a pulire le protesi dopo ogni pasto e a lavarle tutte le sere con sapone neutro ed eventualmente dentifricio prima di riporle in un fazzoletto di carta morbido ed inumidito durante la notte.

Se sono presenti dei denti conoidi nel gruppo frontale vengono ricostruiti direttamente in composito oppure vengono eseguite delle corone in composito (senza preparare l'elemento dentario) per migliorare l'estetica e la fonazione del paziente (**Fig.41**).

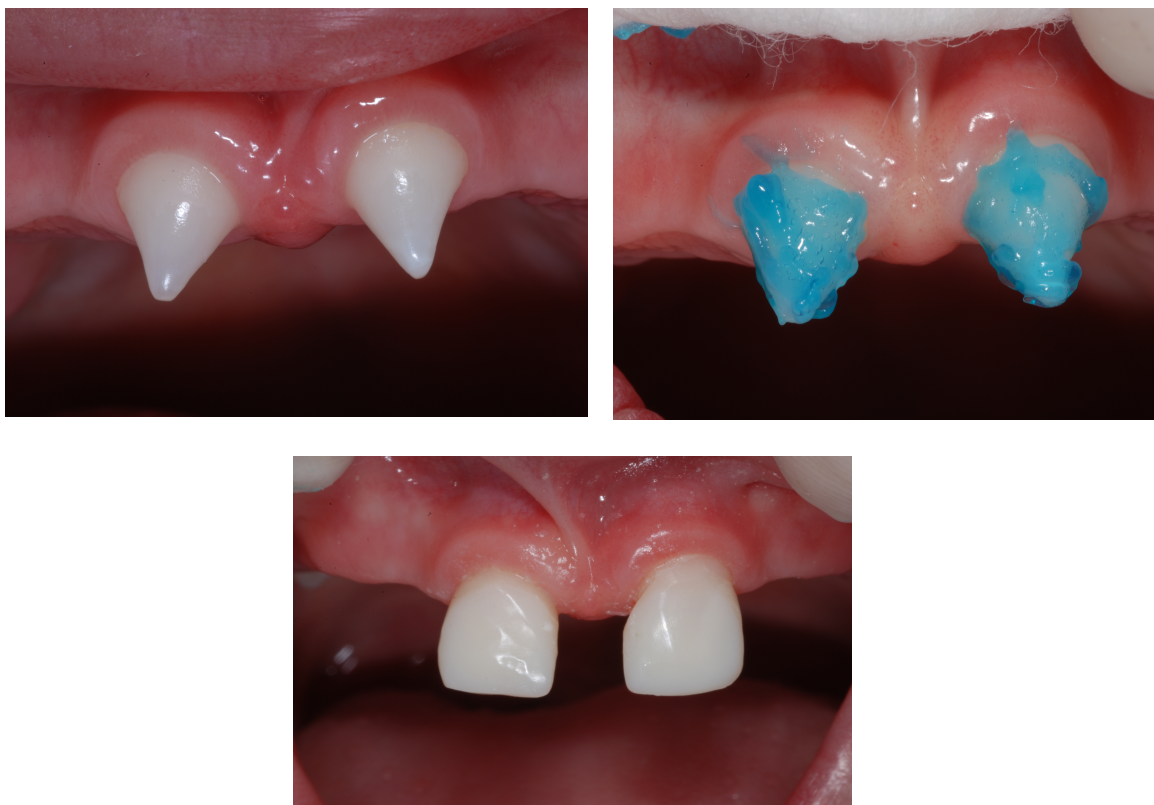


Fig.41- Realizzazione di due corone in composito utilizzate per la ricostruzione degli incisivi centrali

Follow-up e ribasature con resina morbida

I pazienti in trattamento sono in attiva fase di crescita e queste modifiche cranio-facciali potrebbero rendere i manufatti protesici incongrui alla situazione orale in rapida evoluzione. Per tale motivo, sono stati fatti controlli periodici ogni mese per valutare la stabilità e la ritenzione, e soprattutto per individuare la presenza di zone dolenti che potrebbero scoraggiare il paziente a non indossare le protesi.

I test di digitopressione vengono effettuati ad ogni seduta di follow-up per individuare zone dolenti che vengono attentamente scaricate con fresa a montata su manipolo dritto direttamente al riunito.

Per migliorare la stabilità ed il comfort della protesi queste sono state ribasate con una resina siliconica morbida (Sofreliner, Tokuyama, Giappone) (**Fig.42**) che è stata sostituita con ogni 2 o 3 mesi per evitare che possa diventare un ricettacolo di batteri e fonte di infezioni fungine.



Fig.42- Riabasatura delle protesi superiore ed inferiore con resina siliconica morbida (Sofreliner, Tokujama, Giappone)

Inserimento delle viti di espansione

Dopo circa 2-3 mesi dalla consegna delle protesi vengono inserite viti di espansione ortodontiche nelle protesi: a tre vie nel superiore (per permettere l'espansione sul piano sagittale e trasversale) e a due vie nell'inferiore (per permettere l'espansione sul piano trasversale) (**Fig.43**). In questo modo si cerca di assecondare il più possibile la crescita delle ossa mascellari. I genitori sono istruiti a attivare le vite delle protesi circa ogni 2 settimane seguendo le curve di crescita standard di pazienti sani della stessa età, sesso e corporatura.

Le viti di espansione evitano l'incarceramento dei mascellari all'interno della protesi che non potrebbero accrescersi e, al contrario, potrebbero provocare dei decubiti al paziente. La presenza delle viti di espansione, tuttavia, peggiora il comfort della protesi perché aumenta l'ingombro ed annulla l'effetto ventosa della protesi superiore. Per risolvere quest'ultimo problema, una volta inserite le viti di espansione, vengono effettuata una ribasatura con materiale siliconico morbido al fine di chiudere lo spazio che inevitabilmente si viene a creare con l'espansione della vite.

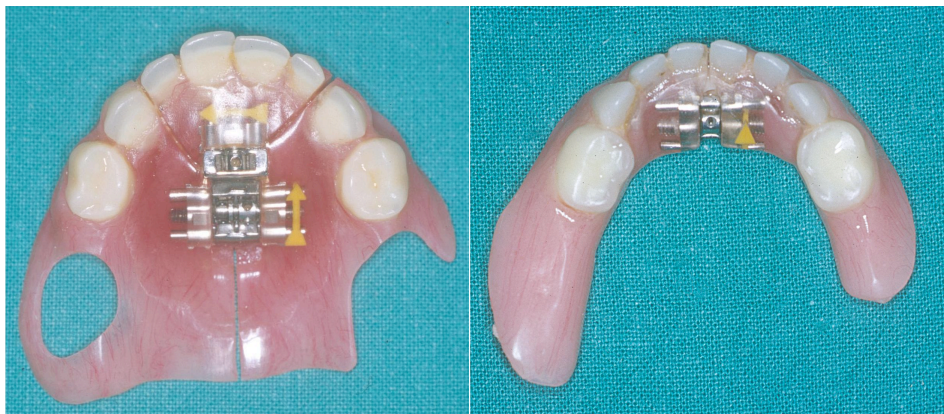


Fig.43- Protesi superiore e inferiore con le viti di espansione inserite

Esecuzione della teleradiografia

La teleradiografia è un esame radiologico fondamentale per la corretta esecuzione di un trattamento ortodontico e viene particolarmente utilizzata in cefalometria (De Florio et al., 2001). I dati ricavati dalla teleradiografia vengono integrati con i dati ricavati dall'analisi clinica del paziente e dallo studio dei modelli. La teleradiografia in proiezione latero-laterale è la più usata nella diagnosi cefalometrica poiché evidenzia, sul piano sagittale, le dimensioni in senso antero-posteriore ed in senso verticale del cranio. Tali dimensioni risultano essere quelle maggiormente importanti per lo studio dello sviluppo ortognatodontico del paziente.

Il teleradiografo è un'apparecchiatura a raggi X costituita da tre parti: il generatore e tubo radiografico, il braccio radiografico, il craniostato. Il generatore di raggi X ed il tubo radiografico presentano le seguenti caratteristiche: -tensione regolabile da 60 a 90 kV, -corrente fissa a 15 mA, -tempo di esposizione variabile da 0,12 a 2 secondi (teoricamente il tempo di esposizione non dovrebbe superare il secondo per evitare artefatti da movimento) (Anthanasios et al., 2000). La parte denominata braccio, è costituita da un dispositivo metallico atto a mantenere uniforme la distanza fuoco-film radiografico. La deformazione e l'ingrandimento devono essere minimali per consentire misurazioni dirette senza calcoli di correzione e ciò si ottiene aumentando la distanza fuoco-pellicola: la distanza ottimale sarebbe di 4 m ma, clinicamente, la più diffusa e praticata è quella di 150 cm. Il craniostato (o cefalostato) è un dispositivo atto a fissare la testa del paziente nella posizione esatta per l'esecuzione della teleradiografia e cioè con il piano di Francoforte (piano passante dal punto più alto del condotto uditivo esterno al punto più basso dell'orbita) parallelo al pavimento. Esso è, infatti, fornito di due olive auricolari da posizionare nel meato acustico esterno

cutaneo del paziente per facilitare l'orientamento della testa ed un appoggio frontale in corrispondenza della sutura fronto-nasale per fissare la posizione così ottenuta. Il craniostato viene regolato in modo che il raggio incidente sia perpendicolare alla superficie laterale del cranio. E' necessario ottenere sul radiogramma la rappresentazione del profilo cutaneo unitamente a quello delle strutture ossee: ciò può essere realizzato filtrando opportunamente il fascio di radiazioni, oppure spalmando una pasta radiopaca sulla superficie lungo il profilo cutaneo, dalla radice dei capelli alla spina sottomentoniera. Lo sviluppo di tali apparecchiature specialistiche ha contribuito significativamente allo studio della crescita e dello sviluppo in bambini portatori di anomalie cranio-facciali (Gandini et al., 2006).

Tutte le teleradiografie sono state eseguite presso il Servizio di Radiologia del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche.

Per l'esecuzione della lastra è stato utilizzato un panoramico digitale di ultima generazione (Planmeca DMAX 3) selezionando i seguenti parametri: 60-62 kV, 6-8 mA (in base al soma del paziente, al sesso e all'età anagrafica), tempo di esposizione di 17 secondi, distanza tubo-sensore di 1,60 m.

Tale apparecchiatura è dotata di braccio cefalometrico digitale ed è particolarmente indicata per i pazienti più giovani per la velocità di scansione e la riduzione della dose di esposizione (consente una regolazione digitale dell'esposizione). Le proiezioni del cranio in latero-laterale ottenute possiedono un filtro speciale per i tessuti molli che ne permette l'adattamento a qualsiasi profilo facciale.

E' molto importante che il capo del paziente si trovi nella posizione naturale perché soltanto in questo modo l'aspetto riprodotto nella radiografia corrisponde alla realtà, consentendo una più ponderata lettura del tracciato. Un altro fondamentale requisito è che tutte le radiografie vengano eseguite con una scala millimetrica così che i piccoli errori causati dall'ingrandimento dell'immagine possano essere compensati (le misurazioni angolari non vengono invece distorte) (Athanasios et al., 2000).

È stata simulata l'esecuzione del radiogramma, in modo da evitarne ripetizioni ed accumulo improprio di radiazioni ed è stato istruito il paziente a rimanere immobile per 17 secondi (la durata del test), con il capo dritto in posizione naturale e con lo sguardo rivolto verso un'immagine appesa al muro, di fronte ai suoi occhi, ad una distanza di circa tre metri (il fatto che il bambino non distolga l'attenzione dall'oggetto indicato, favorisce il mantenimento della posizione cranica corretta). Se il bambino era particolarmente impaurito dalla situazione, uno

dei due genitori veniva fatto posizionare di fronte al suo sguardo (dietro ad una porta trasparente e ad una distanza superiore ai 2,20 metri per proteggersi dalle radiazioni), così da favorirne il rilassamento.

Prima dell'esecuzione del test ai pazienti è stato fatto indossare un camice protettivo dello spessore equivalente a 0,5 mm di piombo. La teleradiografia in proiezione latero-laterale viene eseguita ogni 6 mesi circa.

L'esame è stato eseguito con le protesi in situ, utilizzando come repere radiopaco un foglio di alluminio sagomato oppure un piano di bario per l'identificazione del piano oclusale (**Fig. 44**). Una volta ottenuta la teleradiografia viene realizzato il tracciato cefalometrico secondo Delere. In questo modo è stato possibile valutare il parallelismo tra il piano oclusale e le basi craniche e l'effetto della nostra riabilitazione sulla crescita del massiccio facciale.



Fig.44- Teleradiografia latero laterale con le protesi inserite

Riassumendo le tappe del trattamento comprendono:

Primo appuntamento:

- Rilevamento di impronte preliminari con alginato ad indurimento rapido, utilizzando portaimpronte in commercio (della misura più piccola) adattati, per la costruzione di portaimpronte individuali (resina fotopolimerizzabile), basi e valli per le registrazioni

Secondo appuntamento:

- Rilevamento di impronte con un polietere, utilizzando portaimpronte individuali, per la costruzione di modelli master

- Valutazione anatomica dei modelli

Terzo appuntamento:

- Registrazioni tramite placche base superiore e inferiore in resina, con valli in cera (proporzionalmente ridotti) e filo di sicurezza, piano di Fox (proporzionalmente ridotto)
- Realizzazione del manufatto protesico

Quarto appuntamento:

- Valutazione estetico-funzionale (con i genitori) e fonetica (se possibile) del gruppo frontale

Quinto appuntamento:

- Valutazione montaggio dei denti diatorici (Test della digitopressione, prova movimenti eccentrici)

Terapia ortopedica e di aggiornamento:

►A un mese:

- Controllo dei manufatti protesici

►A 2 mesi:

- Inserimento di viti centrali di espansione da attivare progressivamente per permettere l'aggiornamento delle protesi all'accrescimento dei mascellari

►A 6 mesi:

- Esecuzione di teleradiografia latero-laterale del cranio in cefalostato per valutare il piano occlusale (con mascherina radiopaca sul piano occlusale)
- Esecuzione di tracciato cefalometrico secondo Delaire per individuare il parallelismo tra piano occlusale e base cranica.

►Mensilmente:

- Rivalutazione ed eventuale ribasatura con resina siliconica morbida.

Valutazione della crescita di pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica

Tipologia di pazienti

Questo studio si basa sull'analisi di una popolazione di soggetti, in età evolutiva, affetti da Displasia Ectodermica, al quale è stato affiancato un gruppo di controllo composto da pazienti sani della stessa età.

Gruppo sperimentale

Il gruppo sperimentale è composto da 19 pazienti di sesso maschile affetti da Displasia Ectodermica (HED), di età compresa tra i 3 ed i 17 anni (età media 7,2 anni), che afferiscono presso il Servizio di Assistenza odontoiatrica per disabili del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche dell'Università di Bologna. I pazienti vengono riabilitati mediante dispositivi protesici mobili, parziali o totali a seconda della gravità del quadro (seguendo le linee guida precedentemente descritte), allo scopo di alleviare le disabilità funzionali, estetiche e psicologiche che la patologia comporta, come conseguenza dell'agenesia dentale.

Gruppo di controllo

Il gruppo di controllo è stato ricavato dallo studio di Johnson et al (2002) i quali si sono posti l'obiettivo di valutare la crescita cranio-facciale di bambini con Displasia Ectodermica in rapporto a pazienti sani di età analoga. Il gruppo è composto da 32 pazienti sani, 16 maschi e 16 femmine, di età compresa tra i 5 e i 12 anni, che presentano una fisiologica eruzione degli elementi dentali ed una relazione molare di classe I.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una teleradiografia del cranio in proiezione latero-laterale seguita da analisi cefalometrica.

Protocollo utilizzato nello studio

- Selezione dei pazienti che compongono il gruppo sperimentale
- Esame obiettivo.
- Documentazione fotografica .
- Esecuzione di impronte in alginato.
- Valutazione delle ortopantomografie già esistenti.
- Informazione e ottenimento del consenso informato dai tutori legali all'esecuzione della radiografia del cranio in proiezione latero-laterale.
- Esecuzione dell'Rx del cranio in proiezione latero-laterale.
- Analisi delle vertebre cervicali.
- Realizzazione del tracciato cefalometrico mediante software "Nemoceph".
- Calcolo delle medie e deviazioni standard di tutti i dati cefalometrici ottenuti.

- Analisi statistica.
- Elaborazione dei dati statistici allo scopo di valutare le caratteristiche cranio-facciali di pazienti affetti da Displasia Ectodermica.

Analisi delle vertebre cervicali

Le vertebre cervicali costituiscono la parte superiore della colonna vertebrale. Vi sono sette vertebre cervicali (C1-C7). Una tipica vertebra cervicale consiste di un corpo e di un arco vertebrale: il corpo è la parte anteriore della vertebra e presenta una sezione ovoidale, l'arco si attacca posteriormente al corpo e circonda il midollo spinale. Ciascun arco consiste di due peduncoli e due lamine: i peduncoli partono dalle pareti postero-laterali del corpo, le lamine partono dai peduncoli.

La prima e la seconda vertebra cervicale (C1 e C2), presentano una morfologia caratteristica. La prima vertebra è chiamata atlante. E' l'unica che non presenta un corpo, per cui il processo spinoso di C1 forma un anello. L'arco vertebrale può essere diviso in due parti: arco anteriore e posteriore. La seconda vertebra cervicale è chiamata epistrofeo, ed è caratterizzata dalla presenza del dente o processo odontoideo, che si dirige superiormente, si articola con l'arco anteriore dell'atlante e rappresenta il perno intorno al quale ruota l'atlante.

Le restanti vertebre cervicali (C3-C7), presentano la struttura tipica delle vertebre e si assomigliano tutte. Le dimensioni di queste vertebre aumentano in direzione caudale verso le vertebre toraciche.

In ambito ortodontico, è importante individualizzare i periodi di crescita fisiologica accelerata e intensa per meglio valutare il rimodellamento osseo e correggere le discrepanze scheletriche. Il metodo classico di valutazione dell'età scheletrica è rappresentato dall'analisi della radiografia della mano. Tuttavia, la valutazione delle vertebre cervicali ha il vantaggio di non richiedere una radiografia addizionale, perché viene effettuata sulla teleradiografia del cranio, che è normalmente richiesta per il paziente ortodontico.

Le vertebre cervicali presentano sei stadi di maturazione (CVM) e questi stadi sembrano essere correlati con i cambiamenti di crescita scheletrica che avvengono durante la pubertà, per cui rappresentano un metodo efficace per risalire all'età scheletrica del paziente:

- CVM-1 Stadio iniziale: il margine inferiore del corpo vertebrale di C2, C3, C4 è piatto; i margini vertebrali superiori sono inclinati da posteriore ad anteriore; residua dall'80% al 100% di crescita puberale.
- CVM-2 Stadio di accelerazione: si sviluppa una concavità nel bordo inferiore di C2 e C3; il margine inferiore del corpo di C4 è piatto; C3 e C4 assumono una forma più rettangolare; residua dal 65% all'85% di crescita puberale.
- CVM-3 Stadio di transizione: è visibile una concavità netta nel bordo inferiore di C2 e C3; inizia a svilupparsi una concavità nel bordo inferiore di C4; C3 e C4 assumono una forma nettamente rettangolare; residua dal 25% al 65% di crescita puberale.
- CVM-4 Stadio di decelerazione: è visibile una concavità netta nel margine inferiore di C2, C3, C4; C3 e C4 assumono una forma quasi quadrata; residua dal 10% al 25% di crescita puberale.
- CVM-5 Stadio di maturazione: è visibile una concavità accentuata nel margine inferiore di C2, C3, C4; C3 e C4 presentano una forma quadrata; residua dal 5% al 10% di crescita puberale.
- CVM-6 Stadio finale: si sviluppa una profonda concavità nel margine inferiore di C2, C3, C4; C3 e C4 sono più alte che profonde; la crescita puberale è completa.

Realizzazione del tracciato cefalometrico

Le teleradiografie sono state stampate, scannerizzate e poi acquisite mediante il software per ortodonzia Nemoceph NX 2005. Questo software è sicuramente uno dei più versatili presenti sul mercato in quanto permette non solo la gestione digitale e l'archiviazione della documentazione ortodontica, ma anche il reperimento, sul radiogramma, di tutte le strutture necessarie per la realizzazione di qualsiasi tracciato cefalometrico (in latero-laterale o antero-posteriore), nonché l'esecuzione del VTO (visualizzazione degli obiettivi del trattamento), del "morphing" e l'analisi degli spazi sui modelli di studio.

Non è stato utilizzato un tracciato cefalometrico classico, già presente nel programma Nemoceph quale, ad esempio, il tracciato di Gianni, Jaraback, Steiner, Delaire ecc.. poiché tutti questi Autori considerano dei riferimenti dentali che, ovviamente, non risultano riproducibili nei bambini affetti da Displasia Ectodermica. Sia per questo motivo, sia per rendere più facilmente confrontabili i risultati della nostra ricerca con quelli dello studio da

cui è stato ricavato il gruppo controllo, abbiamo deciso di realizzare un nuovo tracciato cefalometrico attraverso l'inserimento, nel programma stesso, dei punti anatomici identificati nello studio suddetto, a partire dai quali il programma traccia linee ed angoli, fornendo poi una tabella con i valori del tracciato.

In ambito ortodontico l'analisi cefalometrica è necessaria ai fini della formulazione della diagnosi e della stesura del piano di trattamento.

Sono stati identificati 13 punti di repere cefalometrici:

N-Nasion

Il punto più anteriore della sutura fronto-nasale sul piano sagittale

Or-Orbitale

Il punto situato in corrispondenza della congiunzione del margine orbitario esterno con il pavimento dell'orbita oculare, sul piano sagittale

S-Sella turcica

Il punto di incontro, sul piano sagittale, del diametro massimo orizzontale con il diametro massimo verticale della sella turcica

Ba-Basion

Il punto medio del margine anteriore del forame magno

Ar-Articolare

Il punto di intersezione del margine posteriore del processo condilare della mandibola con il bordo inferiore della parte basale dell'osso occipitale

PNS-Spina nasale posteriore

Punto di incontro, sul piano sagittale, del palato duro con il margine anteriore della fessura pterigo-mascellare e con il velopendolo

ANS-Spina nasale anteriore (o punto spinale)

Il punto più estremo in avanti della spina nasale anteriore ossea sul piano sagittale

A-Punto A (o punto subspinale)

Il punto più rientrante, sul piano sagittale, della regione anteriore del mascellare superiore, tra la spina nasale anteriore ed il processo alveolare

Me-Menton

Il punto più inferiore della sinfisi mentoniera sul piano sagittale

Gn-Gnathion

Il punto più anteroinferiore sulla sinfisi mentoniera, costruito intersecando una linea perpendicolare alla linea che congiunge Me e Pog

Pg-Pogonion

Il punto più anteriore della sinfisi mentoniera sul piano sagittale

Go-Gonion

Punto di intersezione costruito tra il piano mandibolare ed il piano del ramo

Po-Corion

Il punto più alto del condotto uditivo esterno osseo

A partire da questi punti di repere il programma traccia le seguenti linee ed angoli:

ANS-Me = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra il punto ANS (spina nasale anteriore) ed il punto Me. Evidenzia, sul piano sagittale in senso verticale, la dimensione scheletrica inferiore della faccia.

ANS-N-S = angolo formato dall'incrocio tra il piano S-N (base cranica) ed il piano N-ANS. Evidenzia il profilo facciale. Se il valore dell'angolo è ampio l'osso mascellare è protruso; se il valore è piccolo l'osso mascellare è retruso.

ANS-PNS = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra la spina nasale anteriore e la spina nasale posteriore. La sua inclinazione in confronto al piano di Francoforte e al piano mandibolare, indica la posizione del mascellare sul piano verticale. (Valuta l'estensione del mascellare).

Ar-Go-Me = angolo goniaco. Angolo formato dall'incrocio tra il corpo mandibolare ed il ramo mandibolare. La sua ampiezza indica la tendenza di crescita in senso orario o antiorario della mandibola. $130^{\circ} \pm 5^{\circ}$.

Ba-N = piano craniale. Divide l'endocranio dall'esocranio che si sviluppa perpendicolarmente al piano stesso lungo l'asse facciale e rappresenta un piano di riferimento della posizione mandibolare.

Ba-S-N = angolo formato dall'incontro tra il piano S-N ed il piano S-Ba. Evidenzia, sul piano sagittale in senso antero-posteriore, la posizione della cavità glenoidea e del condilo rispetto alla base cranica. Il valore è direttamente influenzato dallo sviluppo antero-posteriore della base cranica. Valore normale: $129^{\circ} \pm 5^{\circ}$ (condilo in posizione normale). Se l'angolo è inferiore a 124° : condilo in posizione avanzata. Se l'angolo è superiore a 134° : condilo in posizione arretrata.

FH/S-Me = angolo formato dall'intersezione tra il piano di Francoforte e la retta che unisce la Sella al Menton. Valuta il profilo facciale. Più l'angolo è ampio più il terzo inferiore del volto appare retruso, più l'angolo è piccolo, più il terzo inferiore del volto appare protruso.

Go-Ar = lunghezza del ramo mandibolare. Piano del ramo tangente al bordo posteriore della mandibola passante per Ar. Valore normale: 44 +/- 5 mm.

Go-Pg = piano mandibolare tangente al bordo inferiore della mandibola passante per Pg. Indica la lunghezza del corpo mandibolare. Valore normale: 68 mm a 8 anni, con aumento annuo di 2 mm nei maschi e 1,4 mm nelle femmine.

SNA = angolo formato dall'incontro tra il piano S-N ed il piano N-A. Evidenzia, sul piano sagittale, in senso antero-posteriore, la posizione del mascellare superiore nei confronti della base cranica. Valore medio standard: 82° +/- 2°. Angolo minore di 80°: retrusione del mascellare superiore. Angolo maggiore di 84°: protrusione del mascellare superiore.

S-N/Go-Gn = Angolo formato dall'incontro tra il piano S-N (base cranica) ed il piano mandibolare Go-Gn. Evidenzia, sul piano sagittale in senso verticale, il tipo di crescita facciale del soggetto. Il valore è direttamente influenzato dallo sviluppo verticale della base cranica, del mascellare superiore e della mandibola, dall'altezza dei processi alveolari e dei denti. Valore normale: 32° +/- 5° (soggetto normodivergente). Se l'angolo è inferiore a 27°: soggetto ipodivergente. Se l'angolo è superiore a 37°: soggetto iperdivergente.

N-ANS = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra il punto N ed il punto ANS. Evidenzia, sul piano sagittale in senso verticale, la dimensione scheletrica superiore della faccia.

N-Me = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra il punto N ed il punto Me. Evidenzia, sul piano sagittale in senso verticale, la dimensione scheletrica totale della faccia.

N-S-Gn = angolo formato dall'incontro tra il piano S-N ed il piano S-Gn. Evidenzia, sul piano sagittale, la direzione di crescita della mandibola. Il valore è direttamente influenzato dallo sviluppo verticale e antero-posteriore della mandibola. Valore normale: 67° +/- 1° (crescita mandibolare bilanciata). Se l'angolo è inferiore a 66°: crescita mandibolare prevalentemente antero-posteriore. Se l'angolo è superiore a 68°: crescita mandibolare prevalentemente verticale.

ANS-PNS/Me-Go = angolo formato dai piani basali mascellare e mandibolare ed è anche chiamato "angolo maxillo-mandibolare". Evidenzia, sul piano sagittale, in senso verticale, il

tipo di divergenza del distretto maxillo-mandibolare. Il valore dell'angolo è direttamente influenzato dallo sviluppo verticale del mascellare superiore e della mandibola, dall'altezza dei processi alveolari e dei denti. Valore normale: $26^{\circ} \pm 1^{\circ}$. Angolo minore di 25° : angolo maxillo-mandibolare ipodivergente. Angolo maggiore di 27° : angolo maxillo-mandibolare iperdivergente.

N-S/ANS-PNS = angolo formato dall'incontro tra il piano S-N ed il piano ANS-PNS. Evidenzia, sul piano sagittale in senso verticale, il tipo di divergenza del distretto formato dalla base cranica e parte del mascellare superiore. Il valore è direttamente influenzato dallo sviluppo verticale della base cranica e del mascellare superiore. Valore normale: $10 \pm 3^{\circ}$. Se l'angolo è inferiore a 7° : angolo ipodivergente. Se l'angolo è superiore a 13° : angolo iperdivergente.

S-ANS = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra il punto S ed il punto ANS. Valuta la posizione del mascellare superiore rispetto alla base cranica: mascellare protruso o retruso.

S-Ba = Piano turcico basale. Piano passante per i punti S e Ba, perpendicolare al piano sagittale.

S-N = piano ricavato misurando la distanza tra il punto cefalometrico S ed il punto cefalometrico N, perpendicolare al piano sagittale. Evidenzia sul piano sagittale in senso antero-posteriore, la lunghezza della base cranica. Jarabak afferma che a 11 anni la distanza S-N e la distanza Go-Me dovrebbe essere equivalente. Dopo tale età, la lunghezza di Go-Me tende ad aumentare di 1 mm all'anno rispetto alla lunghezza di S-N. Ciò avviene fino all'esaurimento della crescita che è normalmente stabilita a 16 anni per le femmine e a 18 anni per i maschi. Il valore medio di S-N è di 68 ± 3 mm.

S-Pg = valore lineare ricavato misurando la distanza che intercorre tra il punto S ed il punto Pg. Valuta la posizione (o la direzione di crescita) della mandibola rispetto al cranio: mandibola protrusa o retrusa.

SNPg = angolo formato dall'incontro tra il piano S-N (base cranica) ed il piano N-Pg. Valuta la posizione antero-posteriore della mandibola rispetto alla base cranica. Valore normale: $80^{\circ} \pm 3,5^{\circ}$.

Calcolo di media e deviazione standard

Sono state calcolate media e deviazione standard di tutti i valori cefalometrici ottenuti attraverso la nostra analisi.

MEDIA = indicatore della tendenza centrale delle misure.

DEVIAZIONE STANDARD = indicatore di dispersione che valuta l'allontanamento medio delle singole misure dalla loro tendenza centrale.

Analisi statistica

I dati di media e deviazione standard del gruppo sperimentale e del gruppo di controllo sono stati oggetto di analisi statistica, condotta utilizzando il test *T di Student*, il quale permette di valutare se la differenza di medie tra le due popolazioni è statisticamente significativa.

Interpretazione del test *T di Student*:

- Si sceglie il livello di significatività: $\alpha = 0,05$ che determina un intervallo di confidenza del 95%. Il livello di significatività corrisponde alla probabilità di compiere un errore di prima specie.
- Si calcolano i gradi di libertà mediante la formula $\text{g.d.l.} = N1 + N2 - 2$, dove $N1$ corrisponde al numero di soggetti che compongono il gruppo sperimentale, $N2$ corrisponde al numero di soggetti che compongono il gruppo di controllo; in questo studio, quindi, i gradi di libertà sono 49 ($19 + 32 - 2 = 49$). Rispetto al numero di gradi di libertà, si determina la regione di accettazione dell'ipotesi nulla.
- Calcolo del valore del valore di T mediante la formula:

Nel nostro caso $T(\text{g.d.l.}; \alpha) = T(49; 0,05) = \pm 2,010$.

- Se il valore di T calcolato è compreso nella regione di accettazione (tra -2,010 e +2,010), si accetta per vera l'ipotesi nulla, quindi il test è non significativo; se, invece, il T calcolato è esterno alla regione di accettazione (inferiore a -2,010 oppure superiore a +2,010), si rifiuta l'ipotesi nulla, quindi il test è significativo.

Nel nostro caso l'ipotesi nulla sottoposta a verifica è che la differenza tra le medie del campione sperimentale (soggetti con Displasia Ectodermica) e le medie del gruppo di controllo (individui sani), sia di natura accidentale (cioè sia una conseguenza del campionamento) e non attribuibile all'effetto prodotto dalla patologia. Solamente nei casi in

cui, quindi, il test risulta significativo, la differenza tra le medie dei singoli caratteri nei due gruppi è direttamente imputabile alla patologia; al contrario, se il risultato del test è non significativo, la differenza tra le medie non è imputabile alla patologia ma è di carattere accidentale.

Tuttavia, le conclusioni a cui porta un test di significatività non devono mai essere considerate con valore di certezza, ma sono solo probabili, quindi è possibile commettere un errore di valutazione.

Protocollo di ricerca

Utilizzo di impianti di diametro ridotto per la riabilitazione di pazienti in età evolutiva affetti da Displasia Ectodermica

La riabilitazione tradizionale, associata a corone singole, che comunemente viene realizzata presso il nostro reparto in questi particolari pazienti ha permesso di ottenere un sensibile miglioramento della funzione masticatoria e fonatoria e un netto miglioramento estetico. I pazienti e i loro genitori vivono bene la riabilitazione e appaiono motivati durante il trattamento.

Tuttavia le protesi mobili, e in particolar modo quella inferiore, rappresentano fonte di discomfort per il paziente a causa della ridotta stabilità e ritenzione causata dalla presenza di creste lamellari. Se sono presenti elementi dentari possono essere inseriti ganci di Adams, in caso di oligo-anodonzia questo non è sempre possibile.

Presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili si è cercato di ovviare a questo problema proponendo un protocollo di ricerca che ha ottenuto l'accettazione da parte del Comitato Etico del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi e dal Comitato Etico dell'Azienda Ausl di Bologna.

La finalità del progetto è riabilitare i pazienti in età evolutiva con anodontia o oligodontia (non più di 5 elementi dentari) con overdentures utilizzando impianti di diametro ridotto per aumentarne la stabilità. In particolar modo si pone l'obiettivo di migliorare la stabilità delle protesi inferiori di pazienti in Età Evolutiva affetti da Displasia Ectodermica con oligo-anodonzia; dove quindi gli spessori ossei estremamente ridotti a causa dell'assenza del processo alveolare riducono notevolmente la stabilità e la ritenzione delle protesi tradizionali. Il miglioramento della stabilità protesica indotto dagli impianti inseriti permette anche un più

favorevole approccio psicologico del paziente alla disabilità che lo affligge, permettendogli un miglioramento della qualità della vita, dell'estetica e una più semplice integrazione sociale. Si ipotizza l'utilizzo dei suddetti impianti anche a scopo ortopedico, per favorire lo sviluppo dei mascellari migliorando i carichi masticatori e quindi andando a guidare la crescita delle basi craniche e dei mascellari come suggerito da Johnson et al., (2002). Lo scopo è eliminare la necessità di ricorrere a protesi mobili responsabili di movimenti durante fonazione e masticazione e perciò di discomfort per il paziente.

Gli impianti verranno inseriti in zona 33 e 43 perché la Letteratura propone questa zona come quella meno soggetta alla crescita dei mascellari e capace di fornire una buona stabilità implantare con buone percentuali di successo (intorno al 90% come descritto da Guckes et al., 1991 e da Griffiths et al., 2005).

Promotore della Ricerca

Sperimentazione finalizzata al miglioramento della pratica clinica che non ha finalità di lucro. Lo studio indipendente è promosso dal Prof. Claudio Marchetti dell'Unità Operativa di Chirurgia Maxillo-Facciale Policlinico Sant'Orsola Malpighi in collaborazione con la Prof.ssa Gabriela Piana responsabile del Servizio di Odontoiatria per Disabili del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche.

Sede della sperimentazione

Lo studio viene condotto presso il Reparto di Chirurgia Orale e Maxillo-Facciale del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi e presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche di Bologna.

L'arruolamento dei pazienti, la raccolta dei dati anamnestici medici ed odontoiatrici, lo studio del caso e la conseguente diagnosi e la raccolta di tutti i dati post-operatori verranno eseguiti presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche. Mentre tutte le terapie di chirurgia (intervento di posizionamento degli impianti, scopertura impianti) presso il Reparto di Chirurgia Orale e Maxillo-Facciale del Policlinico Sant'Orsola-Malpighi.

Disegno dello studio

Studio clinico di coorte. Vengono reclutati un totale di almeno 10 pazienti affetti da Displasia Ectodermica con oligo-anodonzia (non più di 5 elementi dentari) di età compresa tra 9 e 17 anni presso Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Alma Mater Studiorum, Bologna.

Descrizione impianti

Gli impianti che sono utilizzati per lo studio presentano un diametro ridotto e compreso tra 2.2 e 3.8 mm. La scelta del diametro implantare dipende dallo spessore del tessuto osseo esistente nel sito chirurgico.

Le ditte fornitrici dei suddetti impianti sono due: Straumann® (Basel, Svizzera) e SAMO® (Cadriano, Bologna, Italia).

L'impianto Straumann® *Bone Level*, di diametro 3.3 mm, possiede una superficie sabbiata e mordenzata fortemente idrofilica e capace di velocizzare il processo di osteointegrazione (Shwarz et al., 2007).

L'impianto SAMO® *Smiler*, di diametro 2.2 e 3.8 mm, possiede una superficie nanotecnologica (BioSpark®) arricchita di ioni calcio e fosfato che favorisce la formazione di cristalli di idrossiapatite sulla superficie di titanio migliorando il contatto osso-impianto (Sandrini et al., 2008) e velocizzando il processo di osteointegrazione.

Numero di casi

Dal 2008 al 2013, verranno arruolati nel Reparto di Odontoiatria per Disabili, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche (Bologna), almeno 10 pazienti di età compresa tra 9 e 17 anni, affetti da Displasia Ectodermica, con ipo/anodonzia e con riassorbimento osseo marcato, che necessitano di una riabilitazione protesica supportata da impianti per migliorare funzione masticatoria e fonatoria e l'estetica delle aree edentule.

Durata dello studio

Lo studio ha un periodo di arruolamento di 18 mesi circa. La durata complessiva dello studio sarà di 5 anni.

Criteri di inclusione dei pazienti:

- Almeno 9 anni di età, fino ai 17 anni compiuti;
- Diagnosi di Displasia Ectodermica con anodonzia o oligodonzia (non più di 5 elementi dentari);
- Quantità di osso sufficiente a garantire l'inserimento degli impianti di diametro ridotto documentata da misurazioni cliniche e radiologiche;
- Consenso firmato allo studio e garanzia a partecipare per tutta la durata del progetto da parte di entrambi i genitori e del ragazzo se di età > a 12 anni.

Criteri di esclusione dei pazienti:

- Presenza di patologie sistemiche associate;
- Quantità di osso insufficiente a garantire l'inserimento degli impianti di diametro ridotto documentata

Procedure di studio

Registrazione del paziente

I Genitori dei pazienti che soddisfano i criteri di inclusione, sono informati a riguardo dello studio ed i suoi obiettivi e, viene loro chiesto di partecipare. I Genitori del paziente ricevono poi tutte le informazioni, facenti parte del consenso informato scritto.

Documentazione preoperatoria

- Anamnesi medica
- Anamnesi odontoiatrica
- Valutazione radiografica dei mascellari (OPT, TLL, TC con 3D Accuitomo)
- Valutazione degli spessori ossei
- Documentazione fotografica (Viso frontale, viso lato dx, lato sn, terzo inf. del viso visione frontale, lato dx e sn, arcate in visione frontale, visione occlusale sup. ed inf.)
- Modelli di studio pre-operatori
- Modello stereolitografico

- Fotografie delle procedure chirurgiche
- Fotografie delle procedure protesiche
- Fotografie delle procedure di laboratorio
- Cartella del follow-up.

Valutazione spessore della cresta ossea

Per valutare lo spessore osseo di ogni paziente ci si avvale di:

- misurazione clinica
- misurazione radiologica

Tecnica clinica:

Dopo l'esecuzione di anestesia topica e locale, tramite un calibro chirurgico, si eseguono misurazioni a 0.4, 0.9 cm dalla cresta clinica; superiormente le prime misurazioni nella zona corrispondente alla parte esterna dell'ala del naso (individuate con calibro) e le seconde distalmente a 0,5 cm dalle prime (posizione 13-15, 23-25); inferiormente misurazioni verranno effettuate mesialmente al forame mentoniero (individuato con sonda bottonuta).

Tecnica radiologica:

Il paziente viene sottoposto ad una serie di indagini strumentali radiologiche che comprendono:

- TC con 3D Accuitomo;
- Ortopantomografia;
- Radiografie endorali;
- Teleradiografia del cranio in proiezione Latero-Laterale per valutare le proporzioni del massiccio facciale.

L'obiettivo è quello di valutare lo status dentario del paziente (compresi i germi dentari non ancora erotti) e gli spessori ossei disponibili in zona interforaminale per il posizionamento dei suddetti impianti.

TC con 3D Accuitomo

3D Accuitomo è uno strumento radiografico che permette, grazie ad un fascio conico di raggi X, di ottenere, con dosi di esposizione minime, immagini assiali e parassiali CT (Tomografia Computerizzata) per la zona dei mascellari e del massiccio facciale (prodotto da J. Morita Mfg. Corp).

Due dimensioni dell'area da riprodurre 40 x 40 mm 60 x 60 mm

Alta risoluzione per un'area di veduta larga

Misura Voxel 0.125 mm, alta risoluzione (2.0 line pair/mm)

Bassa dose effettiva

L'ampia gamma dinamica ed il tono espressivo creano immagini brillanti delle zone dei tessuti duri e soffici

Permette una diagnosi accurata per impianti, lesioni apicali, articolazione temporo-mandibolare, impatti, ecc.

Tale esame viene effettuato presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche.

Ortopantomografia

La radiografia panoramica è un esame che consente una visione completa dell'anatomia dei denti e del parodonto del paziente e costituisce la base sulla quale impostare successivi approfondimenti per una più fine esigenza diagnostica. L'ortopantomografia è in definitiva parte integrante di un check-up periodico sullo stato di salute dentale del paziente, alla base di una corretta prevenzione delle malattie dentali e parodontali. Tale esame viene effettuato presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche ed avrà una funzione, sia diagnostica, che di controllo dopo l'inserimento implantare.

Radiografia endorale

Radiografia standard bidimensionale di piccole dimensioni 5cm x 10cm circa utile per il controllo radiografico di 1 o 2 elementi dentali e per la valutazione del riassorbimento osseo a carico di tali elementi o degli impianti. Tale esame viene effettuato presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche.

Esami clinici e radiografici da effettuare		Posizioni anam ento degli Impia nti	Post	2 sett	2 Mesi dall' impiant	6 Mesi dall' impiant	12 Mesi dall' impianto	Ogni anno fino a 5° anno
					o	o		
Valutazione Pre Clinica	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓
Ortopantom ografia	✓		✓		✓	✓	✓	✓
Rx endorali	✓		✓		✓	✓	✓	✓
Accutomo 3D	✓		✓		✓	✓	✓	✓
TLL	✓		✓		✓	✓	✓	✓

Realizzazione del modello stereolitografico

Dopo aver realizzato la TC con il 3D Accutomo, i dati Dicom sono inseriti in un programma di elaborazione grafica tridimensionale (OsiriX) con il quale è possibile riprodurre su video la morfologia del cranio del paziente (**Fig.45**). La ricostruzione tridimensionale così ottenuta viene inviata ad una stampante stereolitografica che permette di realizzare un modello in resina della mandibola del paziente (**Fig.46**).

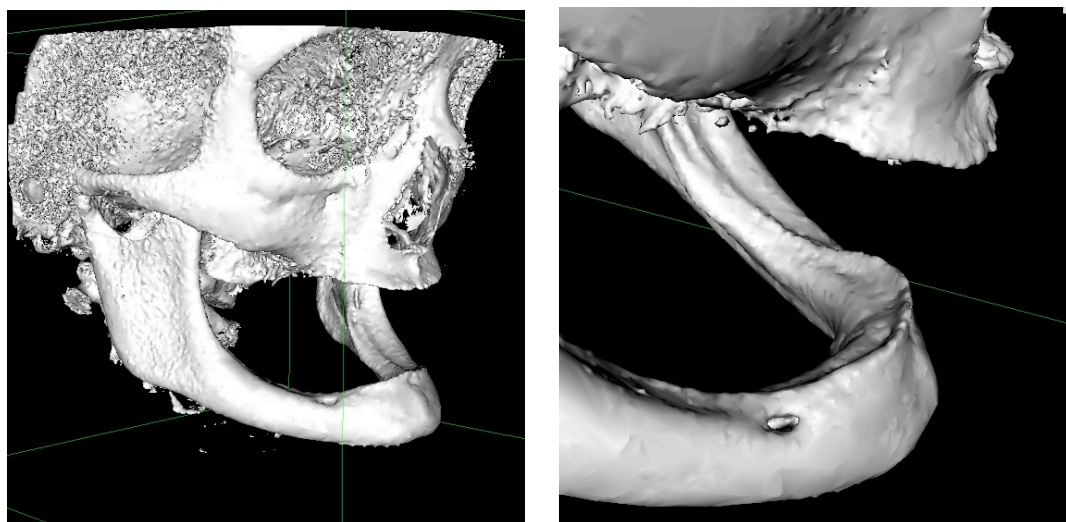


Fig.45- Ricostruzione tridimensionale del massiccio facciale e della mandibola del paziente



Fig.46- Realizzazione del modello stereolitografico della mandibola del paziente

Impronte in alginato e definitive

Vengono rilevate impronte in alginato delle arcate mediante portaimpronte del commercio (i più piccoli disponibili) che sono colate in gesso ottenendo i modelli di studio. I portaimpronte individuali sono utilizzati per prendere le impronte definitive in polisolfuro (Permlastic Regular, Kerr, Orange, CA, USA).

Simulazione dell'intervento su modello stereolitografico

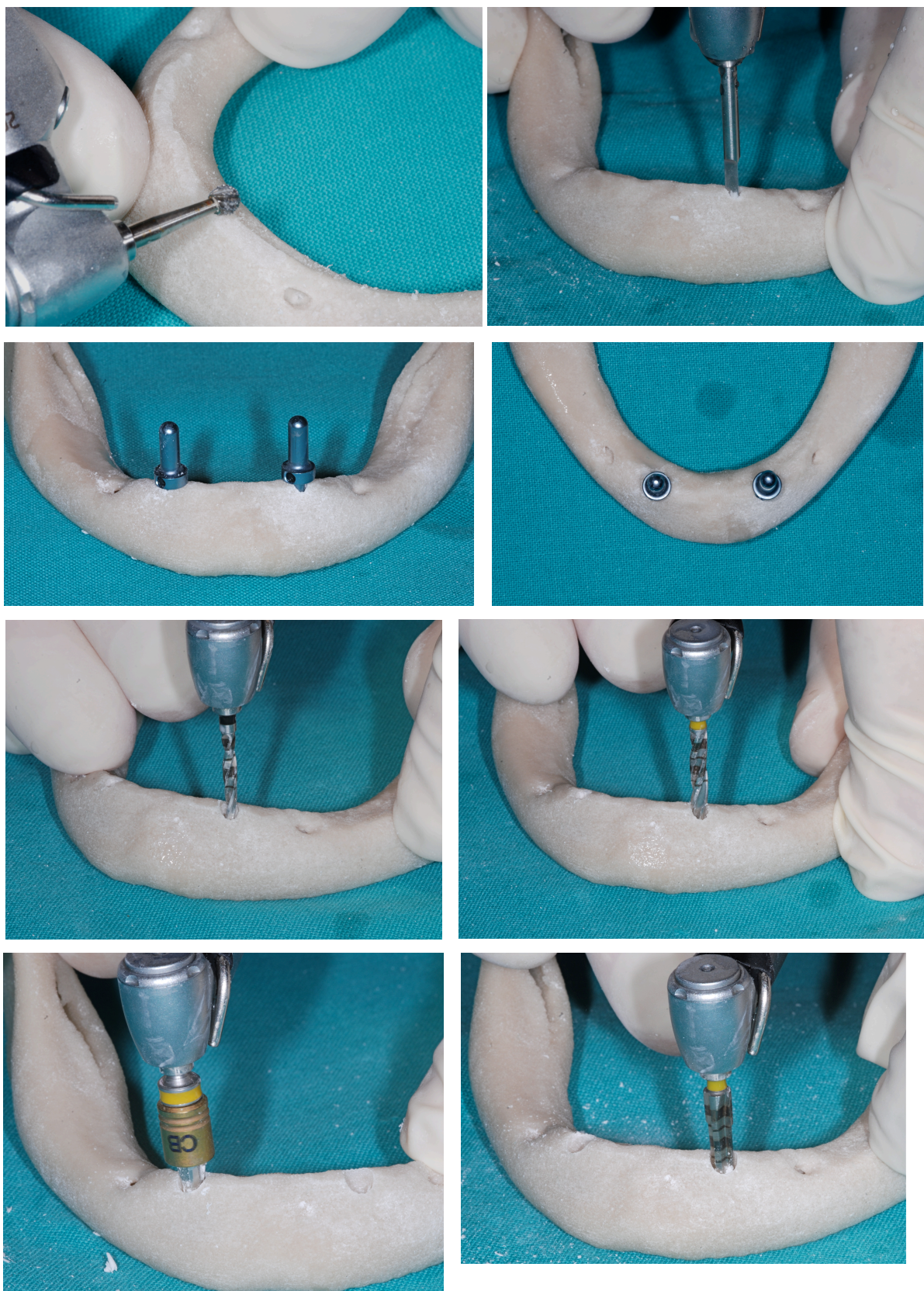
Sul modello stereolitografico viene simulato l'intervento di inserimento degli impianti allo scopo di valutare il diametro e la lunghezza implantare più adeguata al caso e per realizzare una mascherina operatoria perfettamente congrua alla struttura ossea del paziente.

Nel primo caso di riabilitazione implantare si è scelto di inserire due impianti SAMO® Smiler con superficie BioSpark del diametro di 3.8 mm e 10 mm di lunghezza (**Fig.47**).

La tecnica operatoria prevede:

- Spianamento della cresta con fresa a palla montata su manipolo dritto (W&H, Austria);
- Utilizzo della fresa pilota di forma lanceolata per qualche millimetro;
- Utilizzo della fresa da 2 mm per tutta la lunghezza implantare;
- Utilizzo della fresa da 2.7 mm;
- Utilizzo della fresa crestale;

- Utilizzo della fresa finale conica;
- Inserimento di due impianti prova nel modello stereolitografico della mandibola.



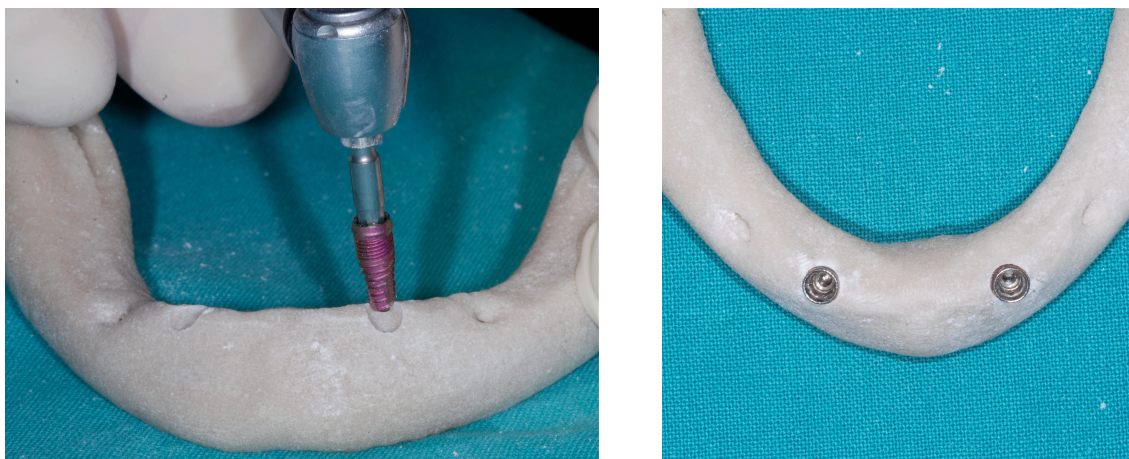


Fig.47- Simulazione dell'intervento su modello stereolitigrafico.

Utilizzando il modello stereolitigrafico l'impronta definitiva viene realizzata la mascherina chirurgica che guiderà ogni intervento (**Fig.48**).

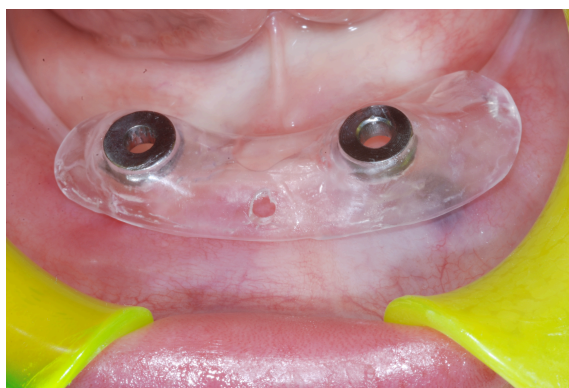


Fig.48- Mascherina utilizzata per l'inserimento degli impianti supaziente

Tecnica operatoria

Tecnica consigliata da casa produttrice di impianti (**Fig.49**).

Anestesia plessica articaia con vasocostrittore adrenalina 1:100000 a livello del forame mentoniero.

Apertura di un lembo a spessore totale e scheletrizzazione dell'osso sottostante con uno scollaperiostio.

Impianto SAMO 2.2

Data la presenza di una cresta alveolare a profilo lamellare è necessario livellarla e ridurla con una fresa a rosetta (800 giri/min) in modo da avere una superficie piana. Dopo aver fissato la mascherina chirurgica verrà utilizzata la fresa lanceolata per pochi mm, quindi la fresa da 1.8 mm (entrambe a 800 giri/min) ed inserito l'impianto di 2.2 mm.

Impianto Straumann® 3.3 mm

Data la presenza di una cresta alveolare a profilo lamellare è necessario livellarla e ridurla con una fresa a rosetta (800 giri/min) in modo da avere una superficie piana. Dopo aver fissato la mascherina chirurgica verrà utilizzata la fresa a pallina di (\varnothing 1.8 mm) per pochi mm (800 giri/min). Successivamente verrà utilizzata la fresa pilota da 2.2 mm e 2.8 mm (800 giri/min) fino alla lunghezza dell'impianto. Verrà poi utilizzata la fresa svasata corrispondente per la preparazione crestale (fresa svasata Bone Level®)

L'impianto Bone Level® da 3.3 mm verrà inserito a 15 giri/min.

Impianto SAMO® Smiler 3.8 mm

Data la presenza di una cresta alveolare a profilo lamellare è necessario livellarla e ridurla con una fresa a rosetta (800 giri/min) in modo da avere una superficie piana. Dopo aver fissato la mascherina chirurgica verrà utilizzata la fresa lanceolata per pochi mm (800 giri/min) e successivamente verrà utilizzata la fresa da 2 mm (800 giri/min) fino alla lunghezza dell'impianto.

Verranno poi utilizzate in sequenza la fresa cilindrica da 2.7 mm (800 giri/min), la fresa crestale (800 giri/min) e la fresa finale finale conica.

L'impianto SAMO BioSpark® da 3.8 mm verrà inserito a 15 giri/min



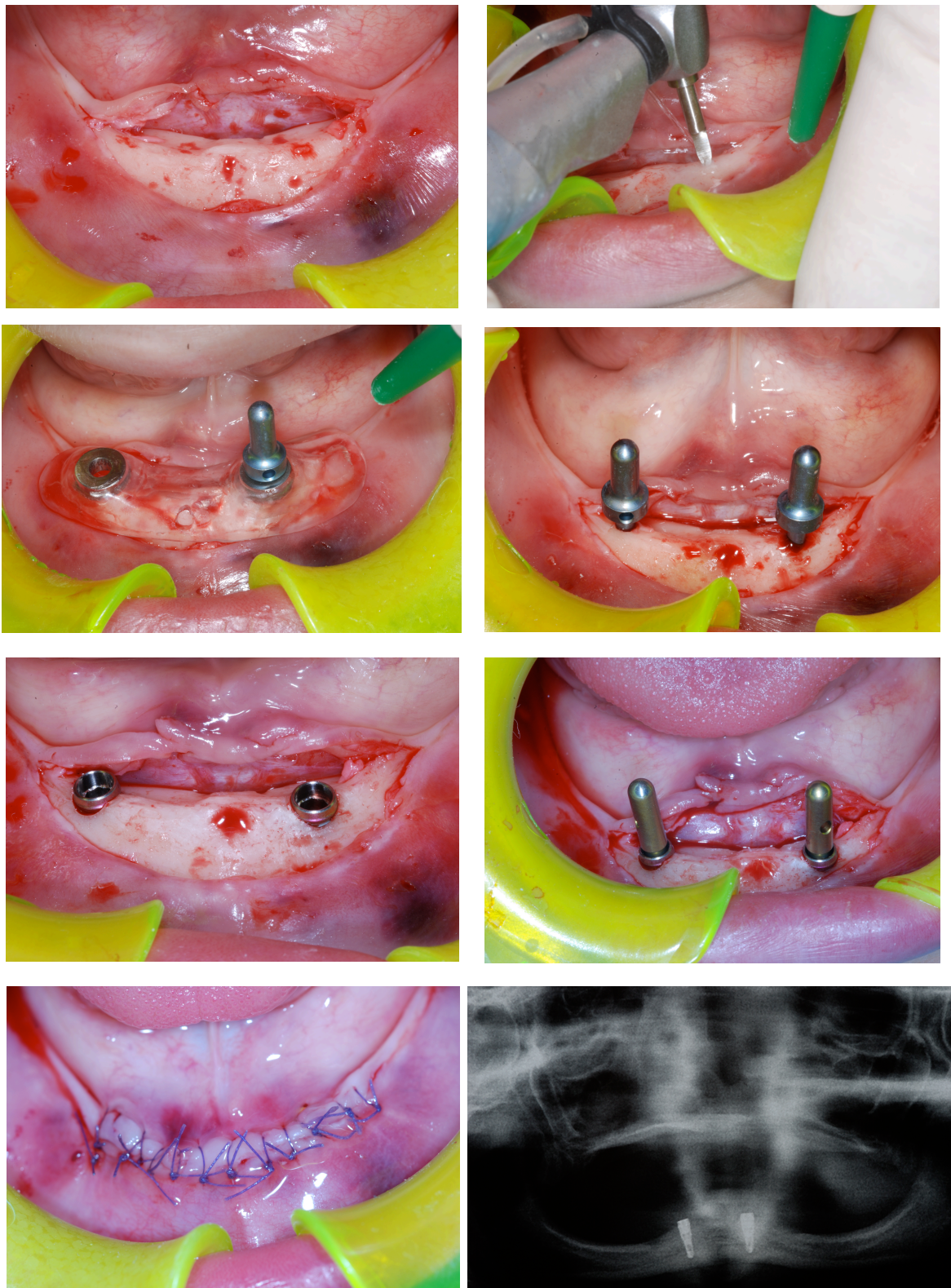


Fig.49- Sequenza operatoria di inserimento implantare in mandibola anteriore

Una volta inseriti gli impianti vengono avvitate le viti di guarigione ed i lembi vengono suturati con Vicryl 4.0 per avere una guarigione sommersa. La guarigione sommersa è di circa

2-3 mesi per avere la conferma dell'avvenuta osteointegrazione. Le superfici trattate degli impianti utilizzati nello studio consentono una riduzione dei tempi di guarigione (1-2 mesi) che altrimenti sarebbero di circa 4 mesi. Nello studio che in esame si attenderà più tempo perché i dati della Letteratura consigliano tempi di rientro maggiori in questi pazienti (Bergendal et al., 2008).

A tutti i pazienti viene somministrata Amoxicillina (dose in base al peso corporeo) a partire dal giorno dell'intervento e per i 6 giorni successivi; viene inoltre prescritto un analgesico non steroideo dopo l'intervento. Le istruzioni post operatorie includeranno una dieta morbida per 2 settimane associata ad un'igiene orale adeguata mediante 4 sciacqui al giorno di collutorio a base di clorexidina 0.2%. Le suture sono rimosse 7-10 giorni dopo l'intervento e durante tale periodo di guarigione della ferita chirurgica non viene utilizzata nessuna protesi rimovibile. Successivamente al paziente vengono fatte indossare protesi mobili fino alla scopertura degli impianti al termine del periodo di guarigione.

Scopertura degli impianti

Dopo il periodo di guarigione sommersa, vengono scoperti gli impianti facendo una incisione a spessore parziale in modo tale da non esporre l'osso e quindi da ridurre al minimo il rischio di riassorbimento dell'osso corticale. Vengono quindi dati due punti di sutura Vicryl 4.0 per bloccare il lembo e favorire una guarigione stabile dei tessuti attorno agli impianti.

Presa delle impronte

Dopo due settimane circa dalla scopertura, quando cioè sono guariti i tessuti molli, vengono avvitati i transfer pick-up per l'impronta agli impianti. Un portaimpronte forato viene forato nella zona degli impianti e uno strato di cera morbida viene inserito dentro al foro. Il portaimpronte viene caricato con polietere (Impregum, 3M-ESPE, St. Paul, MN, USA) e viene inserito in bocca al paziente in modo che la testa del transfer fuoriesca dai fori precedentemente realizzati sul portaimpronte. La vite del transfer viene poi svitata e si attende l'indurimento del materiale (5-6 min.). L'impronta viene successivamente sfilata dalla bocca del paziente e viene consegnata all'odontotecnico unitamente agli analoghi da gesso.

Protocollo Odontotecnico

1° Fase

Valutazione diagnostica pre-chirurgica:

- sviluppo dei modelli studio primari (in gesso ISO III classe) da prime impronte in alginato
- valutazione anatomica dei mascellari riprodotti sui modelli studio
- preparazione di porta-impronte individuale per l'arcata superiore ed inferiore
- sviluppo dei modelli master in gesso ISO IV

2° Fase

Registrazioni:

- preparazione di basi relative ai mascellari in resina trasparente
- applicazione su suddette basi di valli in cera necessari per le registrazioni occlusali:
 - a- valutazione del piano occlusale con piano di Fox opportunamente dimensionato
 - b- linea mediana
 - b- sostegno delle mucose labiali (valutazione profilo)
 - c- linea del sorriso e posizione canini
- applicazione di uno strato radio-opaco su piano occlusale inferiore per valutazione radiografica (TLL) della crescita cranio-facciale e del parallelismo con le basi ossee;
- montaggio in articolatore a valori medi

3° Fase

Base inferiore per diagnosi radiografica

- trasformazione del vallo in cera inferiore in resina trasparente (corpo unico con la base);
- posizionamento all'interno delle mascherine di reperi radio-opachi di 2mm
-

4° Fase

Realizzazione di dima chirurgica:

- valutazione con il chirurgo del posizionamento delle guide in titanio per la fresa chirurgica;

- trasformazione della mascherina diagnostica in dima chirurgica (riduzione del vallo e delle flange che potrebbero compromettere l'operatività chirurgica)
- montaggio del modello inferiore sulla base del parallelometro per applicazione delle guide implantari in titanio;
- trasferimento dei dati valutati dal chirurgo (inclinazione asse ideale e posizione) relativamente alle misurazioni eseguite sulla TC rispetto ai reperi radioopachi;
- posizionamento guide in titanio con strumento guida calibrato su parallelometro;
- fissaggio in resina trasparente delle guide in titanio alla base inferiore opportunamente scaricata.

5° Fase

Realizzazione di protesi mobile totale

- riadattamento base in resina inferiore come portaimpronte inferiore;
- preparazione del nuovo modello master inferiore
montaggio in articolatore del nuovo modello inferiore con l'ausilio della base di registrazione utilizzata come portaimpronte
- preparazione di nuove basi in resina sulla riproduzione dei mascellari montati in articolatore
- montaggio dei denti anteriori e successivamente dei denti diatorici su vallo in cera
- prova estetica del montaggio anteriore, controllo stabilità delle basi, eventuale lavorazione delle flange nelle zone dinamico-funzionali (frenuli) nelle zone retromiloioidee sub-linguali, chiusura sulle tuberosità e posdam

Realizzazione della guida di espansione

Per evitare l'incarceramento dei mascellari inferiore e favorirne la crescita sia sul piano sagittale che sul piano trasversale gli impianti non vengono collegati tra di loro mediante una barra rigida, ma viene avvitata una guida capace di scorrere e di assecondare la crescita della mandibola (**Fig.50**). In questo modo la crescita dei mascellari non è in alcun modo vincolata dal posizionamento degli impianti, ma al contrario può avvenire in completa libertà. La guida d'espansione è realizzata con monconi e barre calcinabili che consentono una riabilitazione semplice e rapida con costi molto contenuti. La guida presenta una porzione millimetrata che consente, durante il trattamento, di valutare l'entità di espansione della mandibola col crescere

del massiccio facciale del soggetto. La Letteratura riferisce che la crescita a livello della sinfisi termina nella prima infanzia (Cronin et al., 1994; Skieller et al., 1984). Questa metodologia di riabilitazione permette di valutare, non solo gli effetti della crescita mandibolare sulla riabilitazione implantare, ma anche se realmente non c'è crescita a livello della sinfisi dopo l'infanzia e se la crescita in mandibola posteriore non influenzi la regione anteriore. La presenza di una parte millimetrata permette di valutare anche l'entità di tale crescita e di correlarla all'età e alla maturità scheletrica del paziente.

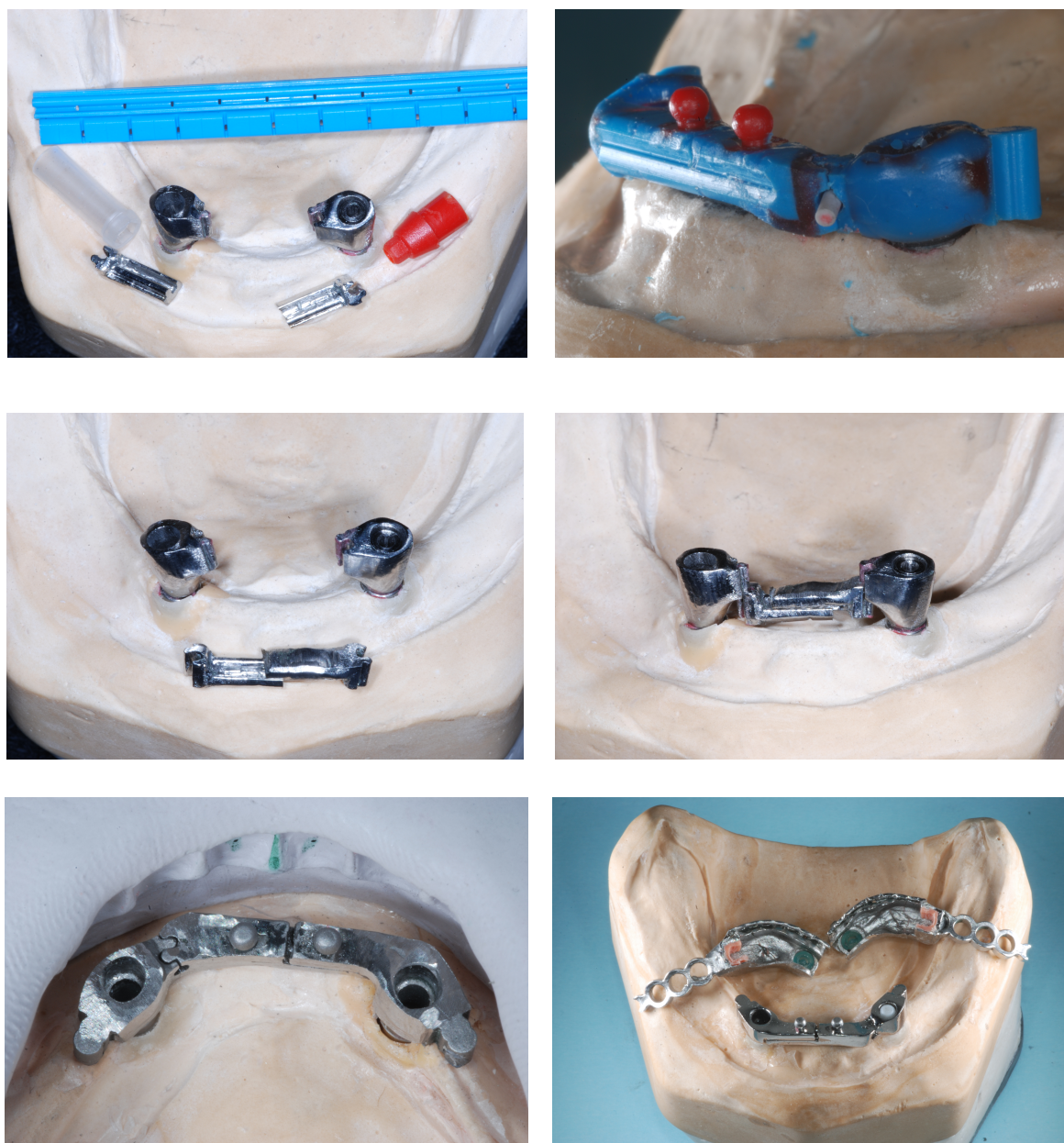


Fig.50- Realizzazione della guida di espansione

Sulla guida di espansione sono inseriti degli attacchi a pallina che permettono alla protesi di agganciarsi alla sottostruttura fornendo una notevole ritenzione, che può essere modulata sostituendo le cappette in teflon inserite nella protesi. Tale dispositivo permette un miglioramento della stabilità protesica e del comfort per il paziente, senza però ostacolare o influenzare in alcun modo la crescita mandibolare.

Follow-up

Il paziente viene controllato ogni mese fino al termine dello studio (5 anni) per valutare lo stato di salute implantare ed individuare zone dolenti eventualmente presenti che devono essere scaricate. Particolare attenzione viene data all'occlusione che deve essere uniforme, con contatti distribuiti su tutti gli elementi dentari. Viene valutata la necessità di ribasatura della protesi per garantire sempre un totale appoggio mucoso ed impedire un sovraccarico sugli impianti.

Oltre alla ortopantomografia (OPT) preoperatoria, viene effettuata una OPT di controllo a 2, 6, 12 e successivamente ad ogni anno dal posizionamento degli impianti fino al termine dello studio.

Ogni anno viene effettuata una teleradiografia in proiezione latero-laterale per valutare il parallelismo tra il piano occlusale e la base cranica e la posizione tridimensionale degli impianti facendo particolare attenzione alla loro migrazione in rapporto alla crescita dei mascellari.

Valutazione della Sicurezza

Le variabili di studio sulla sicurezza includono la valutazione di tutte le complicazioni/reazioni avverse rilevabili durante l'intervento e nel decorso post-operatorio, per tutta la durata dello studio, sia che siano in relazione all'uso del dispositivo o meno.

Analisi dei dati

I risultati ottenuti nei due gruppi di trattamento, sono sottoposti ad analisi di tipo descrittivo ed analisi statistica, con valutazione dei parametri clinici e radiologici confrontando i valori di base con quelli ottenuti ai vari controlli.

CAPITOLO 5

Risultati

I soggetti affetti da Displasia Ectodermica che compongono il campione sperimentale di questo studio (19 maschi di età compresa tra i 3 ed i 17 anni), hanno mostrato un livello di collaborazione buono e ciò ha facilitato la raccolta dei dati: la documentazione fotografica, il rilievo di impronte e l'esecuzione della teleradiografia del cranio in proiezione latero-laterale. Viene riportata qui di seguito la legenda che associa ad ogni lettera dell'alfabeto il rispettivo parametro cefalometrico valutato nell'analisi:

A	ANS-Me	N	N-ANS
B	ANS-N-S	O	N-Me
C	ANS-PNS	P	N-S-Gn
D	Ar-Go-Me	Q	ANS-PNS/Me-Go
E	Ba-N	R	N-S/ANS-PNS
F	Ba-S-N	S	S-ANS
G	FH-S/Me	T	S-Ba
H	Go-Ar	U	S-N
I	Go-Pg	V	S-Pg
L	SNA	Z	SNPg
M	S-N/Go-Gn		

Presentazione dei casi clinici

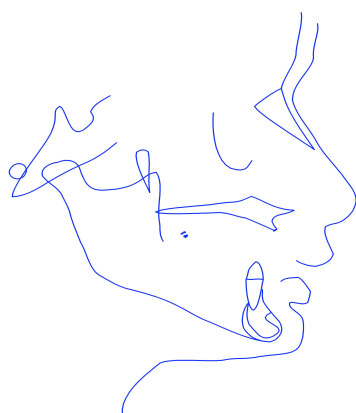
Paziente n° 1 (A.Si.)



Paziente di anni 4 con diagnosi di Displasia Ectodermica Anidrotica (HED). Anodonzia a livello dell'arcata superiore e presenza, a livello dell'arcata inferiore, di un elemento dentale

di forma conoide in posizione 83, con severa atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: iperpigmentazione peri-oculare, capelli diradati e sottili, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, labbra protruse, labbro inferiore everso, terzo inferiore del viso ridotto in altezza. Riabilitato da 2 anni mediante protesi totale superiore e protesi parziale mobile inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 4 anni. CVM-1.

Paziente n° 2 (A.St.)



A	45,2mm	N	37,6mm
B	85,8°	O	82,1mm
C	39,8°	P	60,6°
D	128,1°	Q	25,0°
E	86,3mm	R	2,2°
F	134,3°	S	67,4°
G	56,3°	T	34,4°
H	31,8mm	U	58,8°
I	59,4mm	V	90,8°
L	80,7°	Z	81,5°
M	26,5°		

Paziente di anni 8 con diagnosi di Displasia Ectodermica legata al cromosoma X e presumibilmente di forma Idrotica data la normalità del test al sudore. L'esame del capello ha



evidenziato fragilità del fusto. All'anamnesi personale del figlio, i genitori non segnalano episodi di iperpiressia o infezioni ricorrenti. Anodonzia completa con severa atrofia ossea. Caratteristiche facciali indicative della patologia: iperpigmentazione peri-oculare, capelli diradati e sottili, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, labbra protruse, orecchie basse e allargate. Riabilitato da 6 anni mediante protesi totale superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 8 anni. CVM-1.

Paziente n° 3 (A.M.)

Paziente di anni 10, con diagnosi di Displasia Ectodermica Anidrotica (DEA). Presenza di 8 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 16, 55, 53, 11, 21, 63, 65, 26 (di



A	42,2mm	N	49,6mm
B	74,6°	O	91,3mm
C	33,8mm	P	60,2°
D	134,9°	Q	21,4°
E	87,7mm	R	11,2°
F	133,0°	S	69,2mm
G	54,0°	T	31,4mm
H	36,8mm	U	63,2mm
I	66,4mm	V	101,3mm
L	75,0°	Z	84,0°
M	31,0°		

cui 53 e 63 di forma conoide) e 7 elementi in arcata inferiore in posizione 36, 75, 33, 42, 43, 85, 46 (di cui 33, 42, 43 di forma conoide) senza severi segni di atrofia ossea. Assenza di



caratteristiche facciali indicative della patologia. Riabilitato prima con protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore e, successivamente, con dispositivo ortodontico. Teleradiografia eseguita all'età di 6 anni. CVM-2.

Paziente n° 4 (A.A.)

Paziente di anni 7 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata). Presenza di 7 elementi a livello dell'arcata superiore in posizione 16, 55, 53, 11, 21, 65, 26 (di cui 53 di forma conoide) e 6 elementi in arcata inferiore in posizione 36, 75, 33, 43, 85, 46 (di cui 33 e 43 di forma conoide) con segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: capelli chiari e sottili, labbra secche e screpolate, orecchie



A	43,4mm	N	40,1mm
B	72,8°	O	83,4mm
C	35,6mm	P	69,6°
D	135,9°	Q	35,1°
E	84,4mm	R	5,9°
F	138,6°	S	58,8mm
G	62,4°	T	33,3mm
H	27,9mm	U	56,4mm
I	48,6mm	V	80,0mm
L	67,9°	Z	71,4°
M	39,7°		

basse e allargate. Non ancora riabilitato mediante dispositivi protesici. Teleradiografia



eseguita all'età di 7 anni. CVM-1.

Paziente n° 5 (B.T.)

Paziente di anni 3 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata). Presenza di 2 elementi dentali in arcata superiore in posizione 51, 61 (riabilitati mediante corone in resina) e 2 elementi in arcata inferiore in posizione 73, 83 (entrambi di forma conoide). Severi segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: cute ipopigmentata, secca e desquamata, capelli chiari, radi e sottili, ciglia e



A	53,8mm	N	48,2mm
B	83,9°	O	101,3mm
C	46,1mm	P	64,2°
D	136,7°	Q	25,3°
E	92,7mm	R	9,8°
F	124,1°	S	78,6mm
G	58,1°	T	36,2mm
H	35,2mm	U	67,4mm
I	66,8mm	V	106,5mm
L	79,7°	Z	79,6°
M	33,2°		

sopracciglia quasi completamente assenti. Riabilitato da 1 anno mediante protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 3 anni. CVM-1.

Paziente n° 6 (B.S.)



Paziente di anni 6 con diagnosi di Displasia Ectodermica Ipoidrotica. Presenza di 4 elementi dentali in arcata superiore in posizione 55, 53, 63, 65 (di cui 53 e 63 di forma conoide) e 2 elementi in arcata inferiore in posizione 73, 82 (entrambi di forma conoide). Severi segni di atrofia ossea in aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: cute secca e desquamata, con evidenti eczemi, iperpigmentazione peri-oculare, capelli diradati, ciglia e



A	54,4mm	N	40,7mm
B	81,4°	O	94,0mm
C	41,2mm	P	69,2°
D	129,9°	Q	33,5°
E	88,9mm	R	9,5°
F	141,1°	S	67,0mm
G	58,5°	T	34,1mm
H	36,1mm	U	59,7mm
I	62,2°	V	95,9mm
L	75,0°	Z	75,8°
M	40,0°		

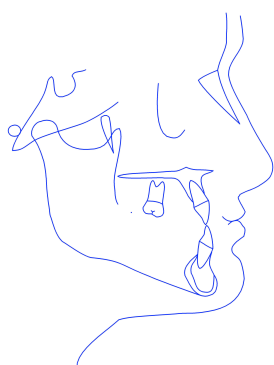
sopracciglia quasi completamente assenti, labbra protruse. Riabilitato da 4 anni mediante



protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 6 anni. CVM-1

Paziente n° 7 (B.R.)

Paziente di anni 3 con diagnosi di Displasia Ectodermica. Presenza di 4 elementi dentali in arcata superiore in posizione 55, 51, 61, 65 (di cui 51 e 61 di forma conoide) e anodonzia a livello dell'arcata inferiore con severi segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: iperpigmentazione perioculare, labbro



A	47,8mm	N	38,3mm
B	81,9°	O	36,1mm
C	36,7mm	P	59,8°
D	126,4°	Q	24,4°
E	84,5mm	R	2,2°
F	134,0°	S	65,9mm
G	52,0°	T	31,8mm
H	39,9mm	U	59,3mm
I	61,8mm	V	96,4mm
L	76,0°	Z	84,3°
M	24,7°		

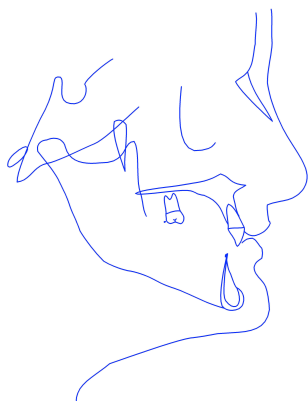
inferiore everso, capelli chiari e sottili, ciglia e sopracciglia molto rade, orecchie basse e allargate. Riabilitato da 1 anno mediante protesi parziale rimovibile superiore e protesi totale



inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 3 anni. CVM-1.

Paziente n° 8 (B.M.)

Paziente di anni 17 con diagnosi di Displasia Ectodermica Anidrotica. Presenza di 2 elementi dentali in arcata superiore in posizione 13, 23 (ricostruiti in composito) e anodonzia a livello dell'arcata inferiore con severi segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche



A	39,9mm	N	36,3mm
B	82,5°	O	76,0mm
C	35,5mm	P	59,3°
D	141,4°	Q	26,9°
E	82,0mm	R	2,3°
F	129,1°	S	62,6mm
G	56,5°	T	34,2mm
H	36,2mm	U	55,9mm
I	48,9mm	V	86,1mm
L	77,2°	Z	82,5°
M	25,8°		

facciali indicative della patologia: iperpigmentazione perioculare, capelli radi, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, naso a sella, labbra protruse, terzo inferiore del viso



ridotto in altezza. Riabilitato da 14 anni mediante protesi parziale rimovibile superiore e protesi totale inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 17 anni. CVM-5.

Paziente n° 9 (C.G.)

Paziente di anni 7 con diagnosi di Displasia Ectodermica. Presenza di 4 elementi dentali in arcata superiore in posizione 16, 53, 51, 26 (di cui il 53 di forma conoide e il 51 riabilitato con corona in composito) e 4 elementi a livello dell'arcata inferiore in posizione 73, 32, 42, 83 (tutti di forma conoide), con severi segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche



A	59,1mm	N	41,0mm
B	77,3°	O	99,5mm
C	44,0mm	P	57,3°
D	120,3°	Q	23,5°
E	102,3mm	R	-3,8°
F	132,5°	S	70,7mm
G	52,5°	T	43,9mm
H	49,5mm	U	67,4mm
I	79,4mm	V	114,2mm
L	76,3°	Z	88,6°
M	17,2°		

facciali indicative della patologia: cute chiara, desquamata, con frequenti eczemi,



iperpigmentazione perioculare, capelli chiari, radi, sottili e “indisciplinati”, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, labbra protruse, terzo inferiore del viso ridotto in altezza. Riabilitato da 1 anno mediante protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 6 anni. CVM-1

Paziente n° 10 (C.V.)



A	45,2mm	N	37,6mm
B	85,8°	O	82,1mm
C	39,8mm	P	60,6°
D	128,1°	Q	25,0°
E	86,3mm	R	2,2°
F	134,3°	S	67,4mm
G	56,3°	T	34,4mm
H	31,8mm	U	58,8mm
I	59,4mm	V	90,8mm
L	80,7°	Z	81,5°
M	26,5°		

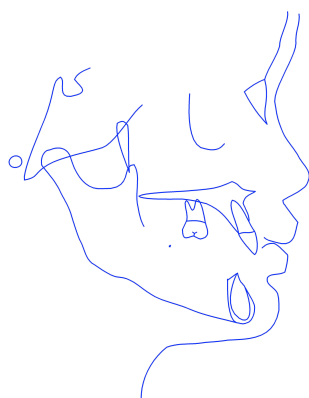
Paziente di anni 6 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata).



Presenza di 7 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 16, 55, 12, 51, 21,

65, 26 (di cui 12 e 11 di forma conoide e 21 in fase di eruzione) e 1 elemento in arcata inferiore in posizione 85 con severa atrofia ossea nelle aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: iperpigmentazione perioculare, capelli chiari e radi, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, labbra protruse, terzo inferiore del viso ridotto in altezza. Riabilitato da 7 mesi con protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 6 anni. CVM-2.

Paziente n° 11 (G.A.)



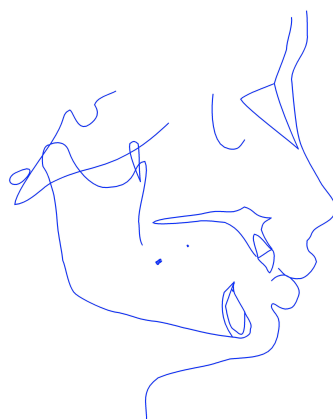
A	48,5mm	N	41,2mm
B	82,4°	O	89,6mm
C	43,2mm	P	55,1°
D	139,2°	Q	24,0°
E	96,4mm	R	0,5°
F	120,3°	S	77,9mm
G	56,4°	T	37,6mm
H	39,2mm	U	71,9mm
I	60,4mm	V	104,6mm
L	77,1°	Z	84,6°
M	23,2°		

Paziente di anni 5 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata).



Presenza di 5 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 55, 51, 61, 63, 65 (di cui 51 e 61 di forma conoide e 63 in fase di eruzione) e 3 elementi in arcata inferiore in posizione 75, 74, 84, con segni di atrofia ossea a nelle aree edentule. Assenza di caratteristiche facciali indicative della patologia. Riabilitato da 3 anni mediante protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 5 anni. CVM-1.

Paziente n° 12 (G.L.)



A	37,7mm	N	40,4mm
B	79,3°	O	77,3mm
C	36,0mm	P	62,7°
D	118,2°	Q	17,0°
E	86,8mm	R	7,1°
F	137,5°	S	64,6mm
G	62,4°	T	34,3mm
H	34,3mm	U	58,4mm
I	53,2mm	V	81,4mm
L	75,6°	Z	75,2°
M	22,9°		

Paziente di anni 9 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata). Presenza di 5 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 12, 11, 21, 22, 26 (di



cui gli incisivi sono riabilitati con corone in composito) e 1 elemento in arcata inferiore in posizione 46 con segni di atrofia ossea nelle aree edentule, specialmente nel settore postero-inferiore. Caratteristiche facciali indicative della patologia: capelli sottili e fragili, ciglia e sopracciglia rade, labbra protruse. Riabilitato da 4 anni con protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 9 anni. CVM- 2.

Paziente n° 13 (K.I.)

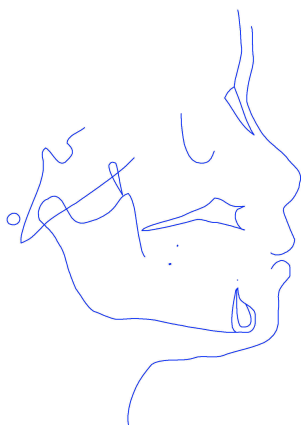


A	41,2mm	N	46,5mm
B	82,3°	O	87,6mm
C	45,3mm	P	57,5°
D	128,1°	Q	21,8°
E	98,7mm	R	5,5°
F	139,5°	S	74,6mm
G	49,0°	T	40,0mm
H	41,6mm	U	64,9mm
I	71,4mm	V	100,9mm
L	75,9°	Z	85,1°
M	23,2°		

Paziente di anni 11 con diagnosi di Displasia Ectodermica Anidrotica. Anodonzia completa



con severa atrofia ossea. Caratteristiche facciali indicative della patologia: iperpigmentazione perioculare, capelli chiari, sottili e “indisciplinati”, ciglia e sopracciglia molto rade, labbra protruse, naso a sella. Riabilitato da 8 anni mediante protesi totale superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all’età di 11 anni. CVM-2.



A	40,7mm	N	38,6mm
B	73,8°	O	79,0mm
C	33,8mm	P	64,3°
D	127,9°	Q	21,8°
E	84,8mm	R	7,8°
F	135,9°	S	60,7mm
G	61,0°	T	31,9mm
H	32,0mm	U	58,9mm
I	51,6mm	V	80,6mm
L	69,3°	Z	74,1°
M	27,8°		

Paziente n° 14 (K.D.)

Paziente di anni 9 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata).



Presenza di 4 elementi dentali a livello dell’arcata superiore in posizione 12, 11, 21, 22 (tutti di forma conoide) e anodonzia a livello dell’arcata inferiore con segni di atrofia ossea nelle aree edentule, in particolare nel settore postero-inferiore. Caratteristiche facciali indicative della patologia: capelli radi e sottili, ciglia e sopracciglia quasi completamente assenti, iperpigmentazione perioculare, labbra protruse, orecchie basse e allargate. Riabilitato da 3

anni mediante protesi parziale rimovibile superiore e protesi totale inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 9 anni. CVM-1.



A	53,5mm	N	44,9mm
B	91,0°	O	97,9mm
C	44,5mm	P	57,2°
D	133,4°	Q	25,8°
E	95,1mm	R	0,7°
F	120,8°	S	79,4mm
G	56,8°	T	44,1mm
H	41,0mm	U	64,7mm
I	69,8mm	V	113,4mm
L	85,1°	Z	90,3°
M	22,9°		

Paziente n° 15 (M.G.)

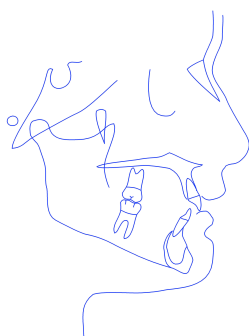
Paziente di anni 9 con diagnosi di Displasia Ectodermica. Presenza di 6 elementi dentali a



livello dell'arcata superiore in posizione 16, 55, 53, 63, 65, 26 (di cui 53 e 63 di forma conoide) e 6 in arcata inferiore in posizione 36, 75, 73, 83, 85, 46 (di cui 73, 83 di forma conoide), con segni di atrofia ossea nelle aree edentule. Assenza di caratteristiche facciali indicative della patologia. Riabilitato da ... anni con protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 9 anni. CVM-2.

Paziente n° 16 (M.M.)

Paziente di anni 9 con diagnosi di Displasia Ectodermica. Presenza di 2 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 55, 65 e 3 elementi in arcata inferiore in posizione 75, 85, 46 con severi segni di atrofia ossea a livello delle aree edentule. Assenza di caratteristiche facciali indicative della patologia. Riabilitato da 6 anni con protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 9 anni. CVM-1.

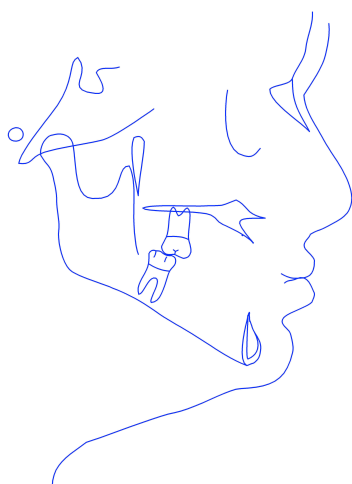


A	51,4mm	N	50,1mm
B	81,7°	O	100,5mm
C	50,3mm	P	64,0°
D	128,3°	Q	23,2°
E	100,5mm	R	6,7°
F	133,0°	S	78,8mm
G	59,9°	T	40,4mm
H	40,9mm	U	68,5mm
I	66,2mm	V	106,9mm
L	76,3°	Z	79,3°
M	28,5°		



Paziente n° 17 (M.J.)

Paziente di anni 6 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata). Presenza di 6 elementi dentali a livello dell'arcata superiore in posizione 16, 55, 51, 61, 65, 26 (di cui 51 e 61 riabilitati con corone in composito) e 5 elementi in arcata inferiore in posizione 36, 75, 73, 83, 46 (di cui 73 e 83 di forma conoide) con segni di atrofia ossea nelle



A	46,1mm	N	44,1mm
B	77,5°	O	90,2mm
C	38,5mm	P	61,1°
D	133,2°	Q	23,7°
E	89,7mm	R	6,0°
F	134,2°	S	68,4mm
G	54,1°	T	33,8mm
H	38,0mm	U	62,8mm
I	65,1mm	V	98,0mm
L	69,2°	Z	81,9°
M	27,9°		

aree edentule. Caratteristiche facciali indicative della patologia: capelli, ciglia e sopracciglia

rade, labbra protruse. Riabilitato da 3 anni con protesi parziale rimovibile superiore ed



inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di 6 anni. CVM-1.

Paziente n° 18 (O.F.)

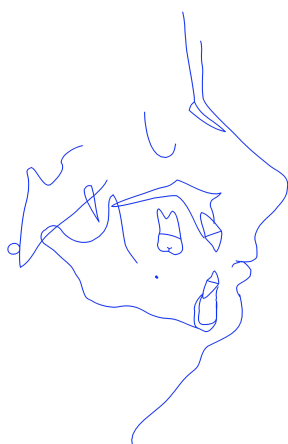
Paziente di anni 8 con diagnosi di Displasia Ectodermica (non diversamente specificata). L'ortopantomografia eseguita nel 2007 evidenzia l'agenesia di 35 e 45. Caratteristiche facciali indicative della patologia: terzo inferiore del viso ridotto in altezza. Riabilitato da 3 anni mediante protesi parziale rimovibile superiore ed inferiore. Teleradiografia eseguita all'età di



A	54,7mm	N	41,4mm
B	82,4°	O	94,3mm
C	40,6mm	P	70,8°
D	128,3°	Q	34,1°
E	87,8mm	R	4,5°
F	143,2°	S	67,2mm
G	66,9°	T	33,5mm
H	35,9mm	U	58,7mm
I	63,4mm	V	93,2mm
L	79,0°	Z	74,2°
M	35,4°		

7 anni. CVM-2.





A	45,3mm	N	31,3mm
B	80,0°	O	74,9mm
C	36,0mm	P	69,8°
D	144,5°	Q	20,8°
E	78,9mm	R	19,1°
F	132,9°	S	56,5mm
G	76,0°	T	32,8mm
H	26,2mm	U	52,8mm
I	38,5mm	V	71,8mm
L	72,5°	Z	69,8°
M	38,3°		

CAPITOLO 6

Discussione

Le Displasie Ectodermiche sono un gruppo eterogeneo di condizioni cliniche che derivano da differenti meccanismi molecolari e presentano una notevole variabilità nell'espressione clinica.

La nostra analisi ha rilevato la presenza di caratteristiche fenotipiche comuni e peculiari della patologia nel 79% dei soggetti. Il fenotipo facciale più rappresentato è quello caratterizzato da: capelli radi, sottili, fragili, ciglia e sopracciglia molto rade, iperpigmentazione perioculare, labbra protruse e riduzione di altezza del terzo inferiore del viso.

Seppur la presenza di fenotipi simili è stata associata alle forme di Displasia Ectodermica X-linked o autosomica per il coinvolgimento di geni che intervengono nelle medesime vie di sviluppo, non è stato possibile verificare queste relazioni, in quanto la maggior parte dei pazienti del gruppo di studio sono ancora in fase di accertamento genetico.

L'analisi dell'OPT ha evidenziato un significativo interessamento dell'apparato dentale, in particolare per quanto riguarda le anomalie di numero: il 5,3% dei pazienti presenta una condizione di *ipodonzia*, l'89,4% di *oligodonzia*, il restante 5,3% di *anodonzia*.

Questo dato è significativo, soprattutto se si considera che nella popolazione generale l'ipodonzia interessa tra il 2,6 e l'11,3% degli individui, mentre oligodonzia e anodonzia interessano una percentuale molto più bassa (Larmour et al., 2005).

L'agenesia dentale si accompagna quasi sempre ad atrofia ossea che, in genere, risparmia solamente le poche aree in cui i denti sono presenti.

Nel nostro campione il numero medio di denti permanenti in agenesia (escluso M3) è 21. Questo dato è in accordo con la letteratura (Lexner et al., 2007; Farrington et al., 1988; Prager et al., 2006), che riporta, per pazienti affetti da ED, un numero di elementi agenetici compreso tra 14 e 23.

Gli elementi permanenti più frequentemente presenti sono i primi molari (sia mascellari che mandibolari), seguiti da incisivi centrali e canini mascellari, in accordo con i dati della letteratura (Lexner et al., 2007; Prager et al., 2006).

A differenza di quanto riscontrato dagli stessi Autori, il campione esaminato mostra un numero basso di agenesie degli incisivi laterali superiori. Questa incongruenza potrebbe essere dovuta al fatto che, essendo frequentemente elementi di forma conoide, sono facilmente confondibili con canini mesializzati.

Frequenti risultano anche gli incisivi inferiori (che vengono invece solitamente riportati come elementi assenti).

In accordo con la Letteratura, gli elementi più frequentemente mancanti sono premolari e secondi molari e l'arcata mandibolare è quella maggiormente interessata dall'agenesia dentale (Lexner et al., 2007; Prager et al., 2006).

L'incidenza degli elementi conoidi è molto elevata e interessa in modo particolare i canini superiori e inferiori, seguiti da incisivi laterali inferiori e centrali superiori. La presenza di elementi conoidi, associata alle caratteristiche facciali e soprattutto all'agenesia dentale, è stata spesso utile per indirizzare il sospetto diagnostico.

L'oligo-anodonzia porta ad un cambiamento della relazione tra i mascellari sul piano sagittale con tendenza allo sviluppo di una III classe. I pazienti affetti da Displasia Ectodermica sviluppano infatti un profilo facciale convesso dove si assiste alla riduzione della lunghezza del mascellare (retrognatismo) e ad un aumento della proinclinazione degli incisivi (Bondarets et al., 2002). La retrognazia mascellare sembra essere collegata al grado di ipodonzia (Bondarets et al., 2002; Johnson et al., 2002).

I valori ottenuti dall'analisi cefalometrica del gruppo di studio mostrano retrusione mascellare, associata ad ipoplasia del terzo medio del volto, come dimostrato dalla riduzione dell'angolo SNA (75°).

Indicativa di ipoplasia del terzo medio è anche la riduzione significativa della distanza tra il punto S e il punto ANS (che valuta la posizione del mascellare superiore rispetto alla base cranica) e dell'angolo ANS-N-S (se il suo valore è piccolo il mascellare risulta retruso).

Il piano bispinale (ANS-PNS), indicativo dell'estensione del corpo mascellare, è diminuito in maniera statisticamente significativa, a conferma di come lo sviluppo antero-posteriore del mascellare sia influenzato negativamente dall'agenesia dentale.

Questi risultati sono in accordo con quanto riscontrato in studi precedenti (Johnson et al., 2002; Bandarets et al., 2002; Lexner et al., 2001; Arslan et al., 2007) e rappresentativi del caratteristico profilo appiattito del terzo medio del volto.

L'inclinazione del mascellare superiore rispetto alla base cranica (S-N/ANS-PNS) e rispetto al piano mandibolare (ANS-PNS/Me-Go) è normale, per cui il pattern di crescita è di tipo normodivergente. Questo dato è in contrapposizione con i risultati presenti in Letteratura (Johnson et al., 2002) riferiti a pazienti in età evolutiva affetti da ED e non sottoposti a trattamento protesico delle agenesie. Tale discordanza è dovuta al fatto che il presente studio è condotto su pazienti riabilitati protesicamente ed i valori cefalometrici sono stati registrati con le protesi in situ. Questi risultati dimostrano come una valida e attenta riabilitazione protesica influenzi positivamente il pattern di crescita maxillo-facciale e, inoltre, evidenziano che le protesi realizzate presentano un piano oclusale corretto.

Un dato significativo rilevato dall'analisi statistica è l'assenza di terza classe scheletrica o tendenza alla terza classe nei pazienti che compongono il gruppo di studio. Dall'analisi della letteratura, i pazienti affetti da Displasia Ectodermica presentano un valore aumentato dell'angolo N-S-Pg e della distanza S-Pg (che valutano posizione in senso antero-posteriore e direzione di crescita della mandibola rispetto alla base cranica) (Johnson et al., 2002; Bondarets et al., 2002) tale per cui un valore aumentato indica protrusione mandibolare, mentre un valore diminuito indica retrusione. Nel presente studio, il valore di S-Pg è significativamente diminuito, mentre S-N-Pg non riporta una differenza di medie statisticamente significativa e si può, pertanto, considerare normale.

L'angolo goniaco (Ar-Go-Me), che indica la tendenza di crescita in senso orario o antiorario della mandibola, mostra un grado di apertura normale. La letteratura, invece, riporta solitamente una maggiore chiusura dell'angolo mandibolare, con accentuata rotazione in senso antero-superiore e conseguente tendenza alla protrusione (Sarnas et al., 1983; Dibbets, 1990) (che contribuisce a determinare il caratteristico aspetto vecchieggiante dei bambini affetti da Displasia Ectodermica).

Considerando che tutti i soggetti analizzati nel nostro studio sono in età evolutiva e sono riabilitati mediante dispositivi protesici a partire da un'età molto precoce, possiamo supporre che la presenza dei manufatti protesici possa influenzare positivamente la direzione di crescita della mandibola, evitando l'instaurarsi di una terza classe scheletrica, cui questi pazienti naturalmente tenderebbero a causa dell'agenesia dentale. Pertanto, creare precocemente un'occlusione stabile mediante protesizzazione favorisce un corretto rapporto intermascellare in senso antero-posteriore (oltre che in senso verticale, come puntualizzato precedentemente), poiché determina una rotazione all'indietro e verso il basso della mandibola; ciò consente un

normale posizionamento del mento nello spazio, con riduzione della concavità facciale e miglioramento dell'estetica.

La lunghezza del ramo mandibolare (Ar-Go), che valuta l'altezza facciale posteriore del terzo inferiore del volto, è diminuita rispetto ai valori standard, così come la lunghezza del corpo mandibolare (Go-Pg), che risulta in media di 59,9 mm, mentre il valore medio standard è di 68 mm a 8 anni. Questa riduzione del 12% della lunghezza mandibolare, può essere dovuta alle dimensioni del nostro campione di studio, ma potrebbe essere anche legata alla diversa origine dei pazienti che compongono i due gruppi (Johnson et al., 2002).

Dalla letteratura risulta che l'angolo formato dall'incrocio tra il piano di Francoforte (Porion-Orbitale) ed il piano S-Me è diminuito, ad indicare un profilo prognatico. Il gruppo analizzato nello studio presenta sì una riduzione di tale valore, ma in misura molto meno accentuata rispetto a quanto riscontrato in lavori analoghi (Ozer et al., 2006).

Questo dato, associato alle precedenti considerazioni, conferma la presenza di un profilo nel complesso piuttosto rettilineo, pur in un assetto di biretrusione.

L'altezza facciale anteriore totale (calcolata dalla distanza tra N e Me) è significativamente diminuita, così come l'altezza del terzo superiore (N-ANS) anche se, quest'ultima, in misura meno accentuata rispetto al terzo inferiore (definito dalle distanza tra ANS e Me) che, in accordo con quanto riportato in letteratura, è nettamente ridotto nei pazienti con Displasia Ectodermica. Ciò dimostra come l'oligo-anodonzia, impedendo la formazione del processo alveolare, determini creste alveolari atrofiche e conseguente perdita di dimensione verticale (Tarjan et al., 2005) e permette di evidenziare che, nei pazienti del gruppo di studio, la carenza del processo alveolare non sia adeguatamente compensata dall'altezza delle protesi, seppur in presenza di una corretta inclinazione del piano occlusale.

La base cranica (S-N) e la distanza S-Ba (indicativa della lunghezza della base cranica posteriore) hanno un valore ridotto rispetto ai controlli. Anche il piano craniale (Ba-N), che divide l'endocranio dall'esocranio, è diminuito, in contrasto con quanto riscontrato in studi analoghi, che riportano un valore simile nel gruppo ED e nei controlli (Johnson et al., 2002).

L'angolo N-S-Ba è, invece, aumentato ad indicare una posizione retrusa della mandibola.

Per quanto riguarda la gravità di agenesia dentale in termini di ipo-, oligo- ed anodonzia, questa è associata in modo significativo alle principali misure lineari e angolari ed è, quindi, direttamente correlata alle caratteristiche cranio-facciali. L'analisi dei valori ottenuti per i singoli pazienti mostra, infatti, che i casi caratterizzati da oligo-anodonzia presentano una più

accentuata retrusione e ipoplasia mascellare (SNA, S/ANS, ANS-N-S) ed una maggiore riduzione della dimensione verticale del viso (N-Me, N-ANS, ANS-Me), in particolare del terzo inferiore, se paragonati ai pazienti con ipodonzia. I risultati ricavati dal presente in accordo con quanto evidenziato da diversi lavori scientifici presenti in letteratura (Johnson et al., 2002; Bondarets et al., 2002; Lexner et al., 2007; Arslan et al., 2007).

CAPITOLO 7

Conclusioni

Dai risultati ottenuti dalla nostra analisi si evince che la riabilitazione di pazienti affetti da Displasia Ectodermica mediante protesi mobile permette un corretto ripristino della funzione masticatoria e fonatoria migliorando nel contempo l'integrazione sociale. Inoltre la presenza delle viti di espansione evita l'incarceramento delle ossa mascellari permettendone la crescita favorendo lo sviluppo di un profilo armonico. Il miglioramento della funzione masticatoria e la realizzazione di carichi masticatori corretti sembra svolgere una particolare importanza nello sviluppo cranio-facciale. In particolare la riabilitazione protesica permette un corretto sviluppo in termini di divergenza e di assetto scheletrico intermascellare. Il loro impiego, pertanto, dovrebbe avvenire il più precocemente possibile, allo scopo di riabilitare le funzioni masticatoria e fonetica, di migliorare l'estetica e conseguentemente di favorire l'inserimento sociale del bambino, ma anche di normalizzare, sia in senso verticale che antero-posteriore, i rapporti tra le arcate, ostacolando la manifestazione clinica di una terza classe. Dato lo scarso sviluppo dei processi alveolari, a causa del quadro di agenesia dentale, una particolare attenzione va riservata all'altezza delle protesi, con l'obiettivo di normalizzare la dimensione verticale del terzo inferiore del viso, mantenendo invariata l'inclinazione del piano oclusale, in quanto fondamentale per un corretto pattern di crescita normodivergente.

Un nuovo protocollo di riabilitazione protesica precoce su impianti (overdenture su impianti) che è appena stato messo in atto, oltre a preservare l'altezza dell'osso alveolare e a rappresentare un ancoraggio osseo per eventuali interventi ortopedici e funzionali, può permettere la realizzazione di manufatti protesici più alti, senza un decadimento della loro stabilità e ritenzione. Inoltre, l'incremento della funzione e la trasmissione di forze attraverso impianti dentali osteo-integrati può influenzare positivamente la crescita cranio-facciale in pazienti con Displasia Ectodermica e, al tempo stesso, migliorare l'estetica ed il comfort, favorendo l'accettazione delle protesi da parte dei pazienti.

La presenza della guida di espansione millimetrata permette inoltre di valutare l'entità di crescita a livello della sinfisi fornendo utili informazioni per il futuro e per la realizzazione del manufatto protesico.

Per avere ulteriori informazioni in questo ambito è necessario attendere il termine del progetto di ricerca della durata di 5 anni.

BIBLIOGRAFIA

2. Akhyani M, Kiavash K. Ectodermal dysplasia with alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007; 73: 409-11.
3. Akhyani M, Kiavash K. Ectodermal Dysplasia with alopecia, onychodysplasia, hyoihidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007; 73: 409-11.
4. Akhyani M, Kiavash K. Ectodermal dysplasia with alopecia, onychodysplasia, hypohidrosis, keratoderma, abnormal teeth and deafness. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2007; 73: 409-11.
5. Alcan T, Basa S, Kargul B. Growth analysis of a patient with ectodermal dysplasia treated with endosseous implants: 6-year follow-up. *J Oral Rehabil* 2006; 33: 175-82.
6. Arslan SG et al. Craniofacial and upper airway cephalometrics in hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Dentomaxillofacial Radiology* 2007; 36: 478-483.
7. Athanasios E Athanasiou. *Cefalometria Ortodontica*. Ed. Martina Bologna 2000.
8. Bal C, Bal BT, Tu(uumlaut)fekcioglu D. Treatment considerations for a patient with hypohidrotic ectodermal dysplasia: a case report. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9: 128-34.
9. Bal C, Bal BT, Tufekçioglu D. Treatment considerations for a patient with hypohidrotic ectodermal dysplasia: a case report. *J Contemp Dent Pract* 2008; 9: 128-34.
10. Baskan Z, Yavuz I, Ulku R, Kaya S, Yavuz Y, Basaran G, Adiguzel O, Ozer T. Evaluation of ectodermal dysplasia. *Kaohsiung J Med Sci* 2006; 22: 171-6.

11. Becktor KB, Becktor JP, Keller EE. Growth analysis of a patient with ectodermal dysplasia treated with endosseous implants: a case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001; 16: 864-874.
12. Bergendal B, Ekman A, Nilson P. Implant failure in young children with ectodermal dysplasia: a retrospective evaluation of use and outcome of dental implant treatment in children in Sweden. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2008; 23: 520-524.
13. Bergendal B, Norderyd J, Bagesund M, Holst A. Signs and symptoms from ectodermal organs in young Swedish individuals with oligodontia. *Int J Paediatr Dent* 2006; 16: 320-326.
14. Bergendal T, Eckerdal O, Hallonsten AL, Koch G, Kurol J, Kvint S. Osseointegrated implants in the oral habilitation of a boy with ectodermal dysplasia: a case report. *Int Dent J* 1991; 41: 149-56.
15. Bessler M, Wilson DB, Mason PJ. Diskeratoses congenital and telomerase. *Curr Opin Pediatr* 2004; 16: 23-28.
16. Björk A, Skieller V. Growth of the maxilla in three dimensions as revealed radiographically by the implant method. *Br Dent J* 1977; 4: 53-64.
17. Björk A, Skieller V. Facial development and tooth eruption. An implant study at the age of puberty. *Am J Orthod* 1972; 63: 339-383.
18. Blecher SR, Debertin M, Murphy JS. Pleiotropic effect of Tabby gene on epidermal growth factor-containing cells of mouse submandibular gland. *Anat Rec* 1983; 207: 25-9.
19. Bondarets N, Jones RM, McDonald F. Analysis of facial growth in subjects with syndromic ectodermal dysplasia: a longitudinal analysis. *Orthod Craniofac* 2002; 5: 71-74.
20. Boran T, Lesot H, Peterka M, Peterkova R. Increased apoptosis during morphogenesis of the lower cheek teeth in Tabby/EDA mice. *J Dent Res* 2005; 84: 228-33.

- 21.**Buyse M. Birth Defects Encyclopedia 1990; Vol. I. Malden, MA: Blackwell.
- 22.**Carrol ED, Gennery AR, Flood TJ, Spickett GP, Abinun M. Anhidrotic ectodermal dysplasia and immunodeficiency: the role of NEMO. Arch Dis Child 2003; 88: 340-1.
- 23.**Cawood JL, Howell RA. Reconstructive preprosthetic surgery, I. Anatomical considerations. Int J Oral Implantol 1991; 20: 75-82.
- 24.**Cetiner D, Engel U, Tuter G et al. Clinical management of ectodermal dysplasia with long term follow up: two case reports. J Clin Pediatric dent 2001; 25: 187-90.
- 25.**Chen Y, Molloy SS, Thomas L, Gambee J, Bachinger HP, Ferguson B et al. Mutations within a furin consensus sequence block proteolytic release of ectodysplasin-A and cause X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Proc Natl Acad Sci USA 2001; 98: 7218-23.
- 26.**Clarke A. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: J Med Genet 1987; 24: 659-63.
- 27.**Clarke A. Hypohidrotic ectodermal dysplasia. J Med Genet 1987; 24:659-63.
- 28.**Clarke A, Phillips DI, Brown R, Harper PS. Clinical aspects of X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. Arch Dis Child 1987; 62: 989-996.
- 29.**Crawford P, Aldren M, Clarke A. Clinical and radiographic dental findings in X linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. J Med Genet 1991; 28:181-185.
- 30.**Cronin RJ & Oesterle LJ. Implant use in growing patients. Treatment planning concerns. Dental Clinics of North America 1998; 42: 1-34.
- 31.**Cronin RJ Jr, Oesterle LJ, Ranly DM. Mandibular implants and the growing patient. Int J Oral Maxillofac Implants 1994; 9: 55-62.
- 32.**Crump IA, Danks DM. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: a study of sweat pores in the X-linked form and a family with probable autosomal recessive inheritance. J Pediatr 1971; 78: 466-473.

- 33.Cui C-Y, Durmowicz M, Tanaka TS, Hartung AJ, Tezuka T, Hashimoto K et al. EDA targets revealed by skin gene expression profiles of wild-type, Tabby and Tabby EDA-A1 transgenic mice. *Hum mol Genet* 2002; 11: 1763-73.
- 34.Cui CY, Smith JA, Schlessinger D, Chan CC. X-linked Anhidrotic Ectodermal Dysplasia Disruption Yields a Mouse Model for Ocular Surface Disease and Resultant Blindness. *Am J Pathol* 2005; 167: 89-95.
- 35.Darwin C. *The Variations of Animals and Plants Under Domestications*. Ed. 2 London, John Murray 1875; pag. 319.
- 36.De Florio L, Ghigi G. *Compendio di Radiologia Odontostomatologica*. Ed. Idelson-Gnocchi 2001.
- 37.Dibbets JM. Mandibular rotation and enlargement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990; 98: 29-32.
- 38.Ekstrand K, Thomsson M. Ectodermal dysplasia with partial anodontia: prosthetic treatment with implant prosthesis. *J Dent Child* 1988: 282-4.
- 39.Ekstrand K, Thomsson M. Ectodermal dysplasia with partial anodontia: prosthetic treatment with implant fixed prosthesis. *ASDC J Dent Child*. 1988; 55: 282-4.
- 40.Enlow DH, *Facial Growth* 1990. 3 th Edition. Philadelphia, USA: Saunders Publishers.
- 41.Ezer S, Bayés M, Elomaa O, Schlessinger D, Kere J. Ectodysplasin is a collagenous trimeric type II membrane protein with a tumour necrosis factor-like domain and co-localizes with cytoskeletal structures at lateral and apical surfaces of cells. *Hum Mol Genet* 1999; 8: 2079-86.
- 42.Farrington FH. The team approach to management of ectodermal dysplasia. *Birth Defects* 1988; 24: 237-242.
- 43.Ferguson BM, Brockdorff N, Formstone E, Nguyen T, Kronmiller JE, Zonana J. Cloning of Tabby, the murine homologue of the human EDA gene: evidence for

a membrane-associated protein with a short collagenous domain. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 1589-1594.

44. Franchi L, Branchi R, Tollaro I. Craniofacial changes following early prosthetic treatment in a case of hypohidrotic ectodermal dysplasia with complete anodontia. *ASDC J Dent Child* 1998; 65: 116-121.

45. Freire-Maia N, Pinheiro M. *Ectodermal Dysplasias: a clinical and genetic study*. New York: Alan R Liss 1984.

46. Fudalej P, Kokich VG, Leroux B. Determining the cessation of vertical growth of the craniofacial structures to facilitate placement of single-tooth implants. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007; 131: S59-S67.

47. Gandini P, Mancini M, Andreani F. A Comparison of Hand-wrist bone analyses in Measuring Skeletal Maturation. *Angle Orthodontist* 2006; 76: 984-989.

48. Gardel P, Leyder P, Molhant G. Christ-Siemens-Touraine Syndrome. Completed management is unrelated to the number of years. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1985; 86: 114-6.

49. Geza T, William S, Samir A. Ectodermal Dysplasias. *Quintessence Int* 2003; 34: 482-3.

50. Geza T, William S, Samir A. Ectodermal dysplasia. *Quintessence Int* 2003; 34: 482-483.

51. Giannetti L, Rapelli G, Consolo U. Anomalie dentarie nelle displasie ectodermiche. *Minerva Stomatol* 2003; 52: 181-5.

52. Goepferd SJ, Carroll CE. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: a unique approach to esthetic and prosthetic management. *J Am dent Assoc* 1981; 102: 867-9.

53. Graber T, Vanarsdall RL. *Orthodontics: Current Principles and Techniques*. St Luis: Mosby-Year Book, 1994: 211.

54. Gruneberg H. The molars of the Tabby mouse, and a test for the “single-active X-chromosome” hypothesis. *J Embryol Exp Morphol* 1996; 15: 223-244.

55. Guckes AD. Use of endosseous implants in a 3-year-old child with ectodermal dysplasia: case report and 5-year follow-up. *Pediatr Dent* 1997; 19: 282-285.
56. Guckes AD, Brahim JS, McCarthy GR, Rudy SF, Cooper LF. Using endosseous dental implants for patients with ectodermal dysplasia. *J Am Dent Assoc* 1991; 122: 59-62.
57. Guler N, Cildir S, Iseri U, Sandalli N, Dilek O. Hypohidrotic ectodermal dysplasia with bilateral impacted teeth at the coronoid process: a case rehabilitated with mini dental implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2005; 99: E34-8.
58. Headon DJ, Emmal SA, Ferguson BM, Tucker AS, Justice MJ, Sharpe PT et al. Gene defect in ectodermal dysplasia implicates a death domain adapter in development. *Nature* 2001; 414: 913-6.
59. Hertz JM, Norgaard Hansen K, Juncker I et al. A novel missense mutation (402C>T) in exon 1 in the EDA gene in a family with X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Clin Genet* 1998; 53: 205-9.
60. Hickey AJ, Salter M. Prosthodontic and psychological factors in treating patients with congenital and craniofacial defects. *J Prosthet Dent* 2006; 95: 392-6.
61. Hickey AJ, Vergo JT. Prosthetic treatments for patients with ectodermal dysplasia. *J Prosthet Dent* 2001; 86:364-8.
62. Högberg G, Lagerheim B, Sennerstam R. The 9-year crisis reflected at a rehabilitation center, at a child health care center and at a child and adolescent psychiatric center. *Lakartidningen* 1986; 83: 2038-42.
63. Hoshii T, Takeo T, Nakagata N, Takeya M, Araki K, Yamamura K. LGR4 regulates the postnatal development and integrity of male reproductive tracts in mice. *Biol Reprod* 2007; 76: 303-313.
64. Imirzalioglu P, Uckan S, Haydar SG. Surgical and prosthodontic treatment alternatives for children and adolescent with ectodermal dysplasia: a clinical report. *J Prosthet Dent* 2002; 88: 569-572.

- 65.Imirzalioglu P, Uckan S, Haydar SG. Surgical and prosthodontic treatment alternatives for children and adolescent with ectodermal dysplasia: a clinical report. *J Prosthet dent* 2002; 88: 569-572.
- 66.Indelman M, Hamel CP, Bergman R, Nischal KK, Thompson D, Surget MO, Ramon M, Ganthos H, Miller B, Richard G, Lurie R, Leibur R, Russel-Eggitt I, Sprecher E. Phenotypic diversity and mutation spectrum in hypotrichosis with juvenile macular dystrophy. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 1217-1220.
- 67.Itin PH, Fistarol SK. Ectodermal dysplasias. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 2004; 131C: 45-51.
- 68.Itin PH, Fistarol SK. Ectodermal Dysplasias. *Am J Med Genet part C* 2004; 131C: 45-51.
- 69.Johnson EL, Roberts MW, Guckes AD et al. Analysis of Craniofacial Development in Children With Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia. *Am J of Med Gen* 2002; 112:327-334.
- 70.Kato S, Matsubara M, Matsuo T, Mohri Y, Kazama Y, Hatano R, Umezawa A, Nishimori K. Leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor-4 (LGR4, Gpr48) is essential for renal development in mice. *Nephron Exp Nephrol* 2006; 104: e63-e75.
- 71.Kato S, Mohri Y, Matsuo T, Ogawa E, Umezawa A, Okuyama R, Nishimori K. Eye-open at birth phenotype with reduced keratinocyte motility in LGR4 null mice. *FEBS Lett* 2007; 581: 4685-4690.
- 72.Kearns G, Sharma A, Perrott D, Schmidt B, Kaban L, Vargevik K. Placement of endosseous implants in children and adolescents with hereditary ectodermal dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1999; 88: 5-10.
- 73.Kere J, Srivastava AK, Montonen O, Zonana J, Thomas N, Ferguson B et al. X-linked anhydrotic (hypohidrotic) ectodermal dysplasia is caused by mutation in a novel transmembrane protein. *Nat Genet* 1996; 13: 409-416.

- 74.Kobiela A, Kobiela K, Biedziak B et al. A novel mutation A1270G of the EDA1 gene causing Tyr343Cys substitution in ectodysplasin-A in a family with anhydrotic ectodermal dysplasia. *Acta Biochimica Polonica* 2003; 50: 255-258.
- 75.Kramer FJ, Baethge G, Tschernitschek H. Implants in children with ectodermal dysplasia: a case report and literature review. *Clin Oral Impl Res* 2007; 18: 140-146.
- 76.Krarup S, Darvann TA, Larsen P, Marsh JL, Kreiborg S. Three-dimensional analysis of mandibular growth and tooth eruption. *J Anat* 2005;207: 669-682.
- 77.Kristenova P, Peterka M, Lisi S, Gendrault JL, Lesot H, Peterkova R. Different morphotypes of functional dentition in the lower molar region of tabby (EDA) mice. *Orthod Craniofac Res* 2002; 5: 205-214.
- 78.Lamartine J. Towards a new classification of ectodermal dysplasias. *Clin Exp Dermatol* 2003; 28: 351-355.
- 79.Lamartine J, Munhoz Essenfelder G, Kibar Z, Lanneluc I et al. Mutations in GJB6 cause hydrotic ectodermal dysplasia. *Nat Genet* 2000; 26(2):142-4.
- 80.Larmour CJ, Mossey PA, Thind BS et al. Hypodontia-a retrospective review of prevalence and etiology. Part I. *Quintessence Int* 2005; 36: 263-70.
- 81.Lesot H, Peterkova R, Schmitt R, Meyer JM, Viriot L, Vonesch JL, Senger B, Peterka M, Ruch JV. Initial features of the inner dental epithelium histomorphogenesis in the first lower molar in mouse. *Int J Dev Biol* 1999; 43: 245-254.
- 82.Lexner MO et al. Anthropometric and cephalometric measurements in X-linked hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Orthod Craniofacial Res* 2007; 10: 203-207.
- 83.Lexner MO, Bardow A, Hertz JM, Nielsen LA, Kreiborg S. Anomalies of tooth formation in hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Int J Paediatr Dent* 2007; 17: 10-18.

- 84.**Lo Muzio L, Bucci P, Carile F, Riccitiello F, Scotti C, Coccia E, Rappelli G. Prosthetic Rehabilitation of a Child Affected from Anhydrotic Ectodermal Dysplasia: A Case Report. *J Contemp Dent Pract* 2005; 3: 120-126.
- 85.**Masse JF, Pérusse R. Ectodermal Dysplasia. *Arch Dis Child* 1994; 71: 1-2.
- 86.**Matalova E, Tucker AS, Sharpe PT. Death in the life of a tooth. *J Dent Res* 2004; 83: 11-16.
- 87.**Mc Grath JA, McMillan JR, Shemanko CS, Runswick SK, Leigh IM, Lane EB, Garrod DR, Eady RAJ. Mutations in the plakophilin 1 gene result in ectodermal dysplasia/skin fragility syndrome. *Nature Genet* 1997; 17:240-244.
- 88.**Mena CA. Taurodontism. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1971; 32: 812-823.
- 89.**Mikkola ML, Thesleff I. Ectodysplasin signalling in development. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14: 211-224.
- 90.**Mohri Y, Kato S, Umezawa A, Okujama R, Nishimori K. Impaired hair placode formation with reduced expression of hair follicle-related genes in mice lacking *Lgr4*. *Dev Dyn* 2008; 237: 2235-42.
- 91.**Monreal AW, Ferguson BM, Headon DJ, Street SL, Overbeek PA, Zonana J. Mutations in the human homologue of mouse *dl* cause autosomal recessive and dominant Hypohidrotic ectodermal dysplasia. *Nat Genet* 1999; 22: 366-9.
- 92.**Munoz F, Lestringant G, Sybert V, Frydman M, Alswaini A, Frossard PM et al. Definitive evidence for an autosomal recessive form of hipohidrotic ectodermal dysplasia clinically indistinguishable from the more common X-linked disorder. *Am J Hum Genet* 1997; 61: 94-100.
- 93.**Nordgarden H, Jensen JL, Storhaug K. Oligodontia is associated with extra-oral ectodermal symptoms and low whole salivary flow rates. *Oral Dis* 2001; 7: 226-32.
- 94.**Nowak AJ. Dental treatment for patients with ectodermal dysplasias. *Birth Defects* 1988; 24: 243-52.

- 95.**Nussbaum B, Carrel R. The behavior modification of a dentally disabled child. *ASDC J Dent Child*. 1976; 43: 255-61.
- 96.**Oesterle LJ. Implant consideration in the growing child. In: Higuki KW, ed. *Orthodontic Applications of Osseointegrated Implants 2000* 133-159. Chicago, USA: Quintessence Publishing Co.
- 97.**OpHeji DG, Opdebeek H, van Stenberghe D & Quirinen M. Age compromising factor or implant insertion. *Periodontology* 2000; 33: 172-184.
- 98.**Ozer T, Kama JD, Ozer SY. A practical method for determining pubertal growth spurt. *Am J Orthod dentofacial Orthop* 2006; 130: 131.e1-131.e6.
- 99.**Parant M, Cayron R, Ragot CM, Boublil. Anodontia as part of an ectodermal dysplasia with anhidrosis and hypotrichosis. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1969; 70: 461-470.
- 100.**Penarrocha-Diago M, Uribe-Origone R, Rambla-Ferrer J, Guarinos-Carbò J. Fixed rehabilitation of a patient with hypohidrotic ectodermal dysplasia using zygomatic implants. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004; 98: 161-5.
- 101.**Percinoto C, Vieira AE, Barbieri CM et al. Use of dental implants in children: a literature review. *Quintessence Int* 2001; 32: 381-3.
- 102.**Peterkova R, Kristenova P, Lesot H, Lisi S, Vonesch JL, Gendrault JL et al. Different morphotypes of the tabby (EDA) dentition in the mouse mandible result from a defect in the mesio-distal segmentation of dental epithelium. *Orthod Craniofac Res* 2002; 5: 215-226.
- 103.**Peterkova R, Lesot H, Viriot L, Peterka M. The supernumerary cheek tooth in Tabby/EDA mice-a reminiscence of the premolar in mouse ancestors. *Arch Oral Biol* 2005; 50: 219-225.
- 104.**Peterkova R, Peterka M, Lesot H. The developing mouse dentition: a new tool for apoptosis study. *Ann NY Acad Sci* 2003; 1010: 453-466.

- 105.** Peterkova R, Peterka M, Vonesch JL, Ruch JV. Contribution of 3-D computer assisted reconstructions to the study of initial steps of mouse odontogenesis. *Int J Dev Biol* 1995; 39: 239-247.
- 106.** Pigno MA, Blackman RB, Cronin RJ Jr, Cavazos E. Prosthodontic management of ectodermal dysplasia: a review of the literature. *J Prosthet Dent* 1996; 75: 541-5.
- 107.** Pinheiro M, Freire Maia N. Ectodermal Dysplasias: a clinical classification and a causal review. *Am J Med Genet* 1994; 53: 153-62.
- 108.** Pipa-Vallejo A, Lòpez-Arranz-Monje E, Gonzàles-Garcia M, Martinez-Fernandez M, Blanco-Moreno-Alvarez-Buylla F. Treatment with removable prosthesis in hypohidrotic ectodermal dysplasia. A clinical case. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2008; 13: E119-23.
- 109.** Prager T, Finke C, Miethke RR. Dental findings in patients with Ectodermal Dysplasia. *J Orofac Orthop* 2006; 67: 347-355.
- 110.** Priolo M, Lagana C. Ectodermal dysplasias: A new clinical-genetic classification. *J Med Genet* 2001; 38: 579-585.
- 111.** Priolo M, Silengo M, Lerone M, Ravazzolo R. Ectodermal dysplasias: not only “skin deep”. *Clin Genet* 2000; 58: 415-31.
- 112.** Richard G, Rouan F, Willoughby CE, Brown N, Chung P, Ryyanen M, Jabs EW, Bale SJ, DiGiovanna JJ, Uitto J, Russell L. Missense mutations in GJB2 encoding connexin-26 cause the ectodermal dysplasia keratitis-ichthyosis-deafness syndrome. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 1341-1348.
- 113.** Rossi E & Andreasen JO. Maxillary bone growth and implant positioning in a young patient : a case report . *International Journal of Periodontics and Restaurative Dentistry* 2003; 23: 113-119.
- 114.** Ruhin B, Martinot V, Lafforgue P, Catteau B, Manouvrier-Hanu S, Ferri J. Pure ectodermal dysplasia : retrospective study of 16 cases and literature review. *Cleft Palate Craniofac J* 2001; 38: 504-18.

115.Ruiz-Perez VL, Thompson SW, Blair HJ, Espinoza-Valdez C, Lapunzina P, Silva EO, Hamel JL, Gibbs JL, Young ID, Wright MJ, Goodship JA. Mutations in two nonhomologous genes in a head-to-head configuration cause Ellis-van Creveld syndrome. *Am J Hum Genet* 2003; 72: 728-732.

116.Ryan FS, Mason C, Harper JL. Ectodermal dysplasia-an unusual dental presentation. *J Clin Pediatr Dent* 2005; 30: 55-58.

117.Sandrini E, Giordano C, Busini V, Signorelli E, Cigada A. Apatite formation and cellular response of a novel bioactive titanium. *Mater Sci Mater Med.* 2007;18:1225-37. Epub 2007 Feb 3.

118.Sarnas KV, Rune B. The facial profile in advanced hypodontia: a mixed longitudinal study of 141 children. *Eur J Orthod* 1983; 5: 133-143.

119.Sarvan I, Naidoo S, Norval EJ. Hypohydrotic ectodermal dysplasia: an unusual presentation and management in an 11-year-old Xhosa boy. *SADJ* 2000; 55: 34-7.

120.Schmidt-Ullrich R, Aebischer T, Hulsken J, Birchmeier W, Klemm U, Scheidereit C. Requirement of NF-kappaB/Rel for the development of hair follicles and other epidermal appendices. *Development* 2001; 128: 3843-3853.

121.Schmidt-Ullrich R, Paus R. Molecular principles of hair follicle induction and morphogenesis. *Bioessays* 2005; 27: 247-261.

122.Schnur RE. Genodermatoses. *Curr Opin Pediatr* 2004; 16: 678-688.

123.Schwarz F, Sager M, Ferrari D, Herten M, Wieland M, Beker J. Bone regeneration in dehiscence-type defects at non-submerged and submerged chemically modified (SLActive) and conventional SLA titanium implants: an immunohistochemical study in dogs. *J Clin Periodontol.* 2008; 35: 64-75. Epub 2007 Nov 21.

124.Segurado Rodriguez MA, Ortiz De frutos FJ, Cornejo Navarro P et al. Hypohidrotic ectodermal dysplasia: a cause of fever of unknown origin. *An Esp pediatr* 2002; 56: 253-7

- 125.** Sennerby L, Ödman J, Lekholm U & Thilander B. Tissue reactions towards titanium implants inserted in growing jaws: a histological study in the pigs. *Clin Oral Implants Res* 1993; 4: 65-75.
- 126.** Skieller V, Björk A & Linde-Hansen T. Prediction of mandibular growth rotation evaluated from a longitudinal implant sample. *Journal of Orthodontics* 1984; 42:400-411.
- 127.** Smith FJ, Morley SM, McLean WH. A novel connexin 30 mutation in Clouston syndrome. *J Invest Dermatol* 2002; 118: 530-533.
- 128.** Smith RA, Vargervik K, Kearns G, Bosch C, Koumjian J. Placement of an endosseous implant in a growing child with ectodermal dysplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993; 75: 669-73.
- 129.** Sofaer JA. Aspects of the tabby-crinkled-downless syndrome. Observations on the reaction to changes of genetic background. *J Embryol Exp Morphol* 1969; 22: 207-227.
- 130.** Solomon LM, Cook B, Klipfel W. The ectodermal dysplasias. *Dermatol Clin* 1987; 5: 231-7.
- 131.** Sprecher E, Bergman R, Richard G, Lurie R, Shalev S, Petronius D, Shalata A, Anbinder Y, Leibur R, Perlman I, Cohen N, Szargel R. Hypotrichosis with juvenile macular dystrophy is caused by a mutation in CDH3, encoding P-cadherin. *Nat Genet* 2001; 29: 134-136.
- 132.** Srivastava AK, Pispas J, Hartung AJ, Du Y, Ezer S, Jenks T et al. The Tabby phenotype is caused by mutation in a mouse homologue of the EDA gene that reveals novel mouse and human exons and encodes a protein (ectodysplasin-A) with collagenous domains. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94: 13069-13074.
- 133.** Suzuki K, Hu D, Bustos T, Zlotogora J, Richieri-Costa A, Helms JA, Spritz RA. Mutations of PVRL1, encoding a cell-cell adhesion molecule/herpesvirus receptor, in cleft lip/palate-ectodermal dysplasia. *Nat Genet* 2000; 25: 427-430.

134.Sweeney IP, Ferguson JW, Heggie AA, Lucas JO. Treatment outcomes for adolescent ectodermal dysplasia patients treated with dental implants. *Int J Paediatr Dent* 2005; 15: 241-8.

135.Tarjan I, Gabris K, Rozsa N. Early prosthetic treatment of patients with ectodermal dysplasia : a clinical report. *J Prosthet Dent* 2005; 93: 419-24.

136.Thilander B, Ödman J, Gröndahl K & Lekholm U. Aspects on osseointegrated implants inserted in growing jaws: a biometric and radiographic study in the young pig. *European Journal of Orthodontics* 1992; 14: 99-109.

137.Till MJ, Marques AP. Ectodermal dysplasia: treatment considerations and case reports. *Northwest Dent* 1992; 14: 99-109.

138.Tsai PF, Chiou HR, Tseng CC. Oligodontia-a case report. *QuintessenceInt.* 1998; 29: 191-3.

139.Ulusu T, Alacam A, Iscan HN, Ucuncu N. Relation of ectodermal dysplasia and Hipodontia. *J Clin Pediatr Dent* 1990; 15: 46-50.

140.Van Waas MA, Jonkman RE, Kalk W, Van 't Hof MA, Plooi J, Van Os JH. Differences two years after tooth extraction in mandibular bone reduction in patients treated with immediate overdentures or with immediate complete dentures. *J Dent Res* 1993; 72: 1001-4.

141.Vargas GA, Fantino E, George-Nascimento C, Garcus JJ, Haigler HT. Reduced epidermal growth factor receptor expression in hypohidrotic ectodermal dysplasia and Tabby mice. *J Clin Invest* 1996; 97: 2426-32.

142.Vierucci S, Baccetti T, Tollaro I. Dental and craniofacial findings in hypohidrotic ectodermal dysplasia during the primary dentition phase. *J Clin Pediatr Dent* 1994; 18: 291-7.

143.Vierucci S, Baccetti T, Tollaro I. Dental and craniofacial findings in hypohidrotic ectodermal dysplasias during the primary dentition phase. *J Clin Pediatr Dent* 1994; 18: 291-297.

144.Viriot L, Lesot H, Vonesch JL, Ruch JV, Peterka M, Peterkova R. The presence of rudimentary odontogenic structures in the mouse embryonic mandible requires reinterpretation of developmental control of first lower molar histomorphogenesis. *Int J Dev Biol* 2000; 44: 233-240.

145.Viriot L, Peterkova R, Vonesch JL, Peterka M, Peterkova R, Ruch JV. Apoptosis is involved in the disappearance of the diastemal dental primordia in mouse embryo. *Int J Dev Biol* 1997; 41: 679-690.

146.Von Wowern N, Harder F, Hjorting-Hansen E, Gotfredsen K. ITI implants with overdentures: a prevention of bone loss in edentulous mandibles? *Int J Oral Maxillofac Implants* 1993; 8: 191-6.

147.Wang LL, Levy ML, Lewis RA, Chintagumpala MM, Lev D, Rogers M, Plon SE. Clinical manifestations in a cohort of 41 Rothmund-Thomson syndrome patients. *Am J Med Genet* 2001; 102: 11-17.

148.Yavuz I, Baskan Z, Ulku R, Dulgergil TC et al. Ectodermal Dysplasia: Retrospective Study of Fifteen Cases. *Arch Med Res* 2006; 37: 403-409.

Beatrice Dallari¹
Pier Nicola Mason²
Laura Rovatti¹
Marco Montanari³
Adriano Dallari¹

¹Private practitioner, Modena, Italy
²University of Padua, Italy
Dental School
Department of Restorative Dentistry
Head: Prof. Pier Nicola Mason
³Alma Mater Studiorum
University of Bologna, Italy
Department of Dental Sciences
Head: Prof. Carlo Prati

Correspondence:
Dott. Adriano Dallari
V.le Verdi, 59
41100 Modena (Italy)

Etching of quartz and glass fiber posts by hydrofluoric acid: an *in vitro* study

Mordenzatura di perni in fibre di quarzo e di vetro con acido idrofluoridrico: ricerca *in vitro*

ABSTRACT

In order to increase the micromechanical retention at the composite-to-quartz and glass fiber post interface, hydrofluoric acid may be used. Its effectiveness depends on etching time, and shows differences between the glass and quartz fiber posts which have been tested. On quartz ones, etching time of 12-15 sec leads to creation of notching and initial microcracks on the surface. 30 sec etching leads to deeper and branched microcracks, which however seems not to break up the fibers. 5-10 sec etching is able to greatly impair some glass fibers, and a longer time may break up and remove the superficial layer. This leads to the evidence of a lower layer, not reached by hydrofluoric acid, where fibers are intact. A different type of glass fibers, widely covered by epoxy matrix and therefore only little reached by acid, shows anomalous and uneven changes, which are badly classifiable. The above results indicates that in order to increase micromechanical retention at the cement-to-post interface etching quartz fibers for 15 sec may be suggested. On the contrary, the same treatment on some glass fibers is not advisable and/or ineffective.

Key words:

Fiber-reinforced posts, post surface etching, hydrofluoric acid.

RIASSUNTO

Per aumentare la microritenzione all'interfaccia tra cemento composito e perno in fibre di quarzo e di vetro è possibile impiegare l'acido idrofluoridrico. L'azione di quest'ultimo dipende dal tempo di mordenzatura, e presenta differenze nei due perni in quarzo e nei due perni in fibre di vetro testati. Per i perni in fibre di quarzo, tempi di mordenzatura di 10-15 secondi creano mazzature e microlesioni di superficie, con iniziali cracks superficiali. Una mordenzatura protratta per 30 secondi porta a microfratture più profonde e ramificate delle fibre, anche se non a tutto spessore e senza la loro disaggregazione. Nei perni in fibra di vetro, invece, alcune fibre sono già seriamente danneggiate dopo 5-10 secondi, e con tempi superiori lo strato superficiale viene disaggregato e in parte rimosso, scoprendo uno strato sottostante indenne perché non toccato dall'acido. Altre fibre, estesamente ricoperte dalla matrice resinosa del perno, sono minimamente esposte all'azione dell'acido, e presentano alterazioni anomale, irregolari e mal catalogabili. Allo stato attuale delle ricerche la mordenzatura delle fibre di quarzo per un tempo massimo di 15 secondi può essere consigliabile al fine di incrementare la ritenzione all'interfaccia cemento-perno. Per alcune fibre di vetro il trattamento è sconsigliabile,

per altre è sostanzialmente inefficace.

Parole chiave:

Perni in fibra, mordenzatura dei perni, acido idrofluoridrico.

INTRODUCTION

The use of quartz fiber posts embedded in resin matrix for the restoration of endodontically treated teeth has considerably extended over recent years (Assmus et al., 1999). This practice has been favoured by the high load resistance of such material shown in several *in vitro* studies (Mannocci et al., 1999; Severino et al., 2002), and by clinical experiences evidencing very encouraging results (Scotti and Ferrari, 2002). We have recently published our experience (Rovatti et al., 2004), collecting and documenting 272 cases of restorations made during 5.8 years using translucent quartz fiber posts (Lightpost, Endolightpost, RDT, St. Egrève, France): 50 more restorations using non-translucent quartz fiber posts, made partly in the same period of time and partly two years previously, made our 7.5 years clinical experience. At the present time, our clinical experience with quartz fiber endodontic posts consists, on the whole, in 417 cases performed during 8.8 years. The constant datum in our and other Authors *in vivo* experience is the ab-

sence of failures; in particular, no fractures of the posts and/or root and no debond occurred. Such results suggest the biomechanical superiority of quartz fiber post compared to carbon fiber one.

The same superiority seems to be there even as regards the adhesive strength of composite resin to the posts (Mannocci et al.,1999; Dallari et al., 2003). The excellent performances and absence of clinical failures can lead to the conclusion that the use of quartz fiber posts is a consolidated procedure, already optimized in protocols and, therefore, to be considered quite reliable.

The fiber posts reliability, however, should not prevent us from continuing active research in other different directions. The passive nature of the post in the tooth-restoration unity allows to distinguish a cement-dentine interface, the luting cement, and the post-cement interface.

At this last one, some authors have tried to obtain on adhesive increase in various ways.

- The use of silane, that is bi-functional molecules capable of bonding different materials. However, opinions differ about the efficiency of quartz post silanization. According to some Authors (Goracci et al., 2003) the use of silane seems to favour bonding quartz posts and some tested flowable composites. Other Authors (Bitter et al., 2004) affirm that silane treatment of glass fiber posts (FRC Postec, Ivoclar-Vivadent) does not affect the retention of post luted with six different composite cements.
- Post sandblasting (Damiani et al., 2003). Sen et al. (2004) lute using four different composite materials glass fiber posts (FRC Postec, Ivoclar-Vivadent) pre-treated with Cojet (Espe), which uses microsand- ing with alluminic particles. The above Authors assert that such treatment improves the post reten- tion with all tested cement.
- Behr (2003) submits the glass post surface to electron beam irradiation, without specifying the technique employed, and limits to affirm that such technique obtains better re- sults than silanization.
- In our previous researches (Rovatti and Dallari, 2001) we obtained rele-

1. Untreated posts	230	N	13.77 MPa
2. Posts treated with single-bottle adhesive	258	N	15.00 MPa
3. Posts etched with 5.7% hydrofluoric acid for 15 sec	299	N	17.38 MPa
4. Silanized posts	283	N	16.45 MPa
5. Posts etched and adhesive treated	412	N	23.95 MPa

Table 1 - Test results.

Risultati dei test.

vant results, by submitting quartz fiber posts to a surface treatment with hydrofluoric acid; this method gave results that are definitely better than the ones obtained by silaniza- tion. Then we have compared the values of pull-out resistance by In- stron machine.

The table 1 shows that etching obtains a superior effect than silanization and, above all, demonstrates that applying an adhesive on etched posts leads to much better results.

PURPOSE OF THE RESEARCH

The aim of this study is to evaluate the impact of etching times on the surface of quartz and glass fibers of some en- dodontic posts, and to identify the pos- sible various effect induced in the two types of fiber by hydrofluoric acid used as etching.

MATERIALS AND METHODS

Nowadays a considerable number of aesthetic endodontic posts are on the market. They are mainly made of quartz and glass fibers. The following are the ones we have selected for our investigation:

- Light Post (RDT), quartz fibers;
- Prototype, quartz fibers;
- FRC Postec (Ivoclar-Vivadent) glass fibers;
- P6% (Ghimas) glass fibers.

As is well-known, glass and quartz fiber posts have the same chemical compo- sition but their structure is different, quartz being crystalline and glass amorphous. That suggest the possibili- ty of different bio-mechanical behav- iours and emphasizes the importance of comparative research.

That explains why, on testing with EDS-

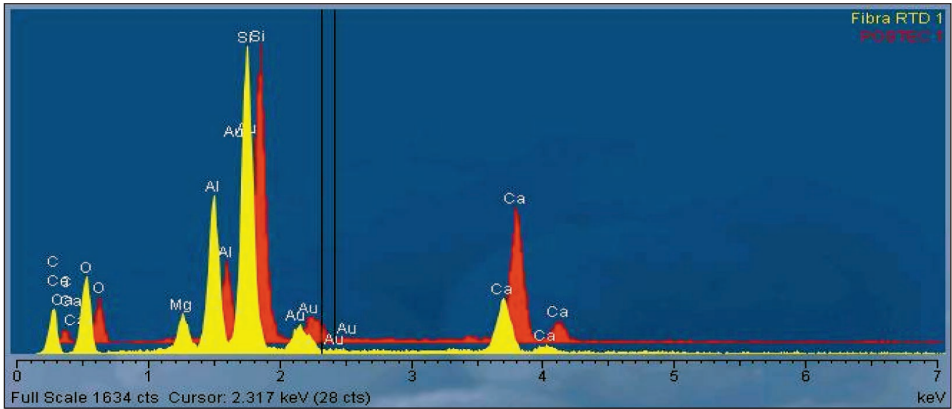


Fig. 1. - Spectrographic analysis of a quartz fiber post and a glass fiber one by EDS-EDAX. Analisi spettrografica della superficie di un perno in fibra di quarzo e uno in fibra di vetro con EDS-EDAX. Sovrapposizione dei due istogrammi per confronto.

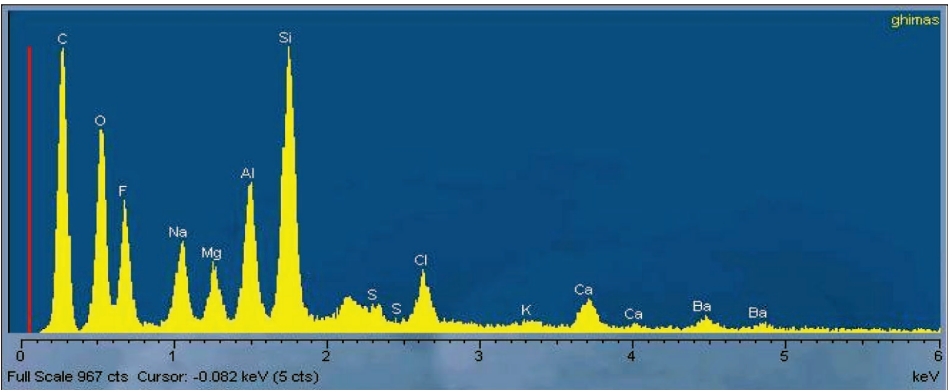


Fig. 2 - Spectrographic analysis of a glass fiber post surface; histogram shows a different course from the one of other posts in the same category.
Analisi spettrografica della superficie di un perno in fibra di vetro; l'istogramma mostra un andamento che si discosta da quello di altri perni della stessa categoria.

EDAX (Oxford Struments, UK), in many cases quartz and/or glass fiber posts show very similar histograms, often practically overlapping (Fig. 1-Light Post, RDT and FRC Postec, Ivoclar-Vivadent). Other glass fiber posts, such as P6% (Ghimas), defined “particular” by the manufacturer, exhibit peculiar histograms, which partly differ from the ones we are tested (Fig. 2). The posts were etched with 9.6% hydrofluoric acid gel (Pulpdent, USA). Etching was protracted for 5-10-15-30 sec. Moreover a quartz fiber post (Light Post) and a glass fiber one (FRC Postec) were etched for a long time (1 and 2 minutes). All samples were submitted to metallization and examined with SEM.

RESULTS

Test n° 1 5 seconds etching of quartz fiber posts

- 1) Light Post (RDT) exhibits perfect parallelism of fibers embedded in compact resin matrix. Fibers show, on the whole, intact surface without any particular of alterations due to etching (Fig. 3).
- 2) Quartz post Prototype at 5 sec etching shows generally intact fibers (Fig. 4). Only in a few points initial hints of fiber involvement can be ob-

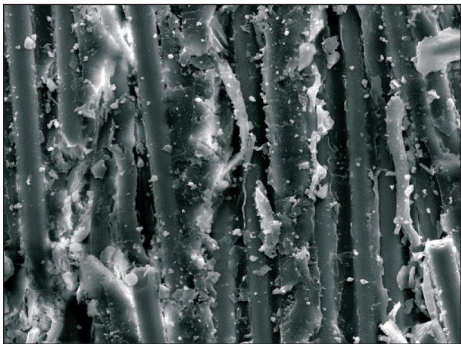


Fig. 3 - SEM (500x) micrograph. Quartz fibers (Light Post, RDT) after 5 sec. etching with hydrofluoric acid keep a normal surface.
Microfotografia al SEM (500x). Le fibre di quarzo (Light Post, RTD), dopo mordenzatura con acido idrofluoridrico per 5 secondi, conservano una superficie normale.

served; in particular, some appear debonded from others. Such alterations appear in various points. At the present state of our investigation we are unable to asses whether the fiber damage is either due to mechanic causes, that is the restorer's handling, or to the peculiar quality of the post.

Test n° 2 5 seconds etching of glass fiber posts

- 1) FRC postec (Ivoclar-Vivadent). Even after such a short etching time, ultramicroscopic observation reveals evident signs of cracks, though ini-

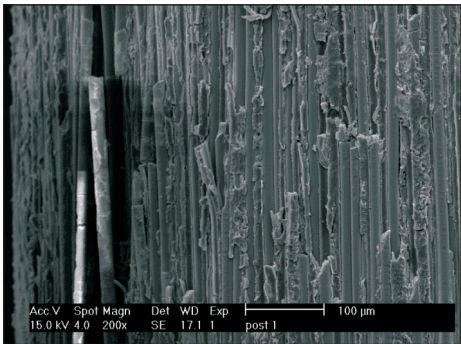


Fig. 4 - SEM (200x) micrograph. Integrity of quartz fibers after 5 sec etching. Only a few fibers debonded from the post surface appear streaked.
Microfotografia al SEM (200x). Integrità delle fibre di quarzo dopo mordenzatura per 5 secondi. Solo alcune fibre, distaccate dalla superficie del perno, appaiono interessate da incisure e mazzature (a sinistra nell'immagine).

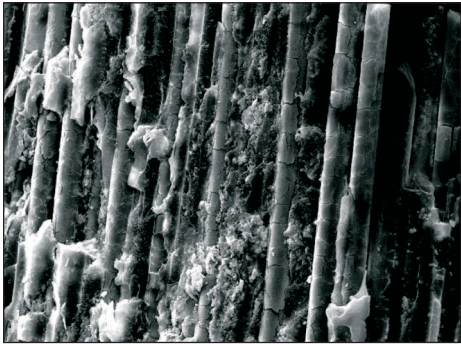


Fig. 5 - SEM (500x) micrograph. After 5 sec etching with hydrofluoric acid, glass fibers show in several point a streaked surface, characterized by transversal, superficial and rectilinear cuts.
Microfotografia al SEM (500x). Le fibre di vetro, dopo mordenzatura con acido idrofluoridrico per 5 secondi, mostrano in diversi punti una superficie mazzata e caratterizzata da incisure trasversali, superficiali e a decorso rettilinee.

- tials. Fibers appear streaked with some transversal fractures, without any branches and rather apart from one another (Fig. 5).
- 2) P6% (Ghimas) posts. Ultramicroscopic exam clearly reveals how this post, differently from others, presents a surface in which fibers are scarcely to be seen being embedded in the resin. In other words, the post surface is mainly constituted of a resin layer and not by a layer of glass fibers, which appear only partially. As

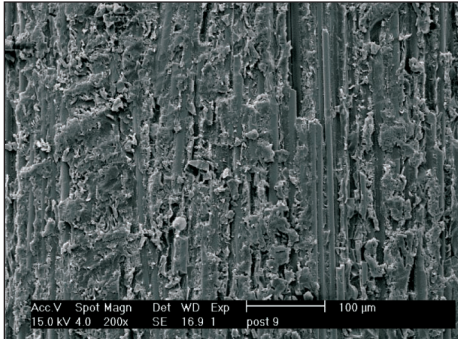


Fig. 6

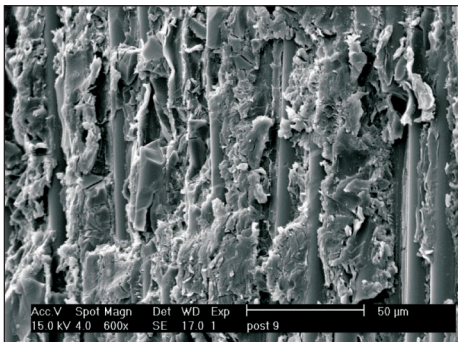


Fig. 7

Figs. 6-7 - SEM micrographs (200x and 600x). Rare glass fibers are visible, covered as they are by a resin layer. However they appear normal.

Microfotografie al SEM (200x e 600x). Sono visibili scarse fibre di vetro, coperte quasi interamente da uno strato di resina. Il loro aspetto comunque è normale.

a matter of fact, resin protects the underlying layer; this explains why fibers appear undamaged after 5 sec. (Figs. 6 and 7).

Test n° 3

10 seconds etching of quartz fiber posts

- 1) Light Post (RDT). The picture is the same as the one evidenced after 5 sec etching. Fibers surface appears intact in various points (Fig. 8). A higher magnification shows slight surface streaks in some points.
- 2) Quartz post Prototype. Low magnification clearly shows that quartz fibers are scarcely concealed by resin and massively appear on the surface, constituting the larger part (Fig. 9). Fibers are still mostly undamaged; only a few show initial notching, as higher magnification makes more evident (Fig. 10). Debond of some fibers in various points is confirmed.

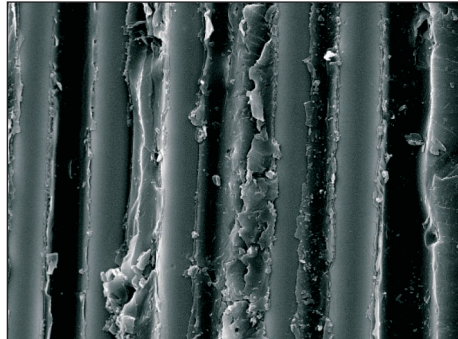


Fig. 8 - SEM micrograph (1000x). Quartz fibers appear intact even after 10 sec etching in several points.

Microfotografia al SEM (1000x). Anche dopo mordenzatura per 10 secondi le fibre di quarzo appaiono in più punti indenni.

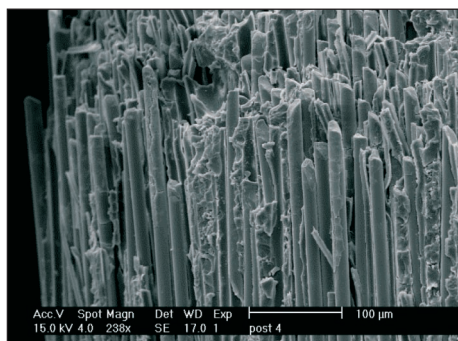


Fig. 9

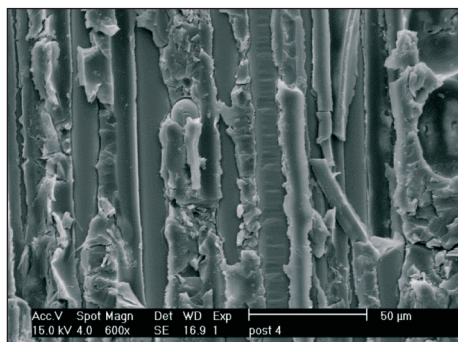


Fig. 10

Figs. 9-10 - SEM micrographs (238x and 600x). Quartz fibers are still nearly intact after 10 sec etching.

Microfotografie al SEM (238x e 600x). Le fibre di quarzo dopo 10 secondi di mordenzatura sono ancora pressoché intatte.

Test n° 4

10 seconds etching of glass fiber posts

- 1) FRC Postec post (Ivoclar-Vivadent). Fibers show surface deterioration in various points and profile alteration.



Fig. 11 - Micrograph (500x). Glass fibers show several transversal microcracks, which are in some points more evident (left side).

Microfotografia al SEM (500x). Le fibre di vetro, deteriorate in superficie, mostrano numerosi microcracks, a decorso trasversale e in alcuni punti molto più netti (a sinistra nella immagine).

Microcracks are evidenced in some points. Microcracks do not appear to cut through the post but are definitely clearer (Fig. 11).

- 2) P6% post (Ghimas). Judgement is difficult owing to the excess of surface resin, which largely covers fibers. At limited magnification, transversal streaks and notching can be observed and microcracks are absent (Fig. 12). At higher magnification (Fig. 13) riddled and furrowed fibers can be observed (upper right corner), along with wholly intact fibers (image left side).

Test n° 5

15 seconds etching of quartz fiber posts

- 1) Light Post (RDT). During this etching time quartz fibers show some degree of surface deterioration and rare, mostly transversal microcracks, which do not seem to go deep into the fiber layer (Fig. 14). At very high magnification, ultramicroscopic exam evidences a very irregular surface able to keep high microretentivity, and alterations of fiber profile (Fig. 15).
- 2) Quartz post Prototype. At low magnification fibers do not show remarkable deterioration signs. Not few appear detached from surface (Fig. 16). At higher magnification, in coincidence with large filling failures, some fibers show transversal

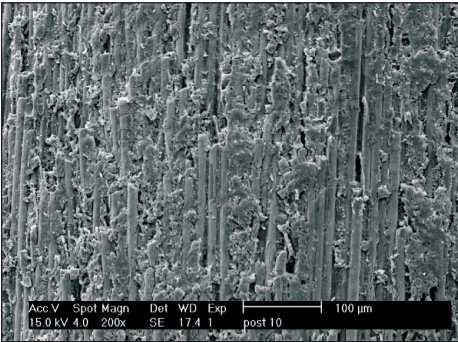


Fig. 12

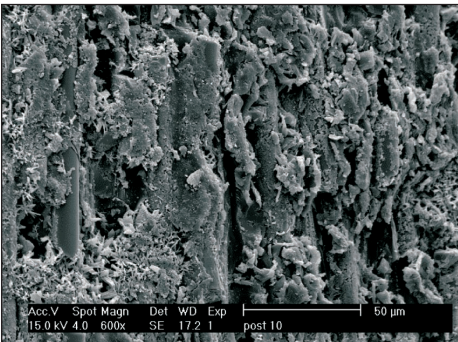


Fig. 13

Figs. 12-13 - SEM micrographs (200x and 600x). Notching and streaks can be seen in the few visible fibers.

Microfotografie al SEM (200x e 600x). In alcune delle poche fibre visibili si possono osservare notching e mazzature.

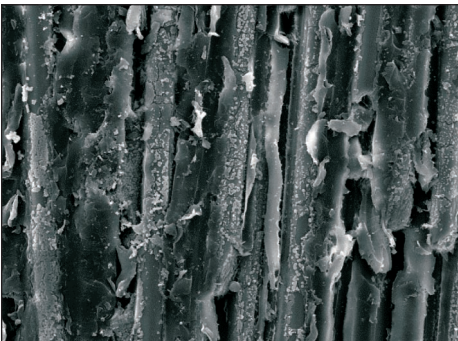


Fig. 14 - SEM micrograph (500x). On quartz fibers start to appear surface deterioration and some microcracks.

Microfotografia al SEM (500x). Le fibre di quarzo cominciano a mostrare deterioramento di superficie e alcuni microcracks.

streaks and notches, however next to still undamaged fibers (Fig. 17).

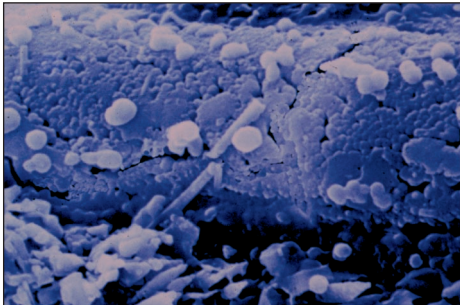


Fig. 15 - SEM micrograph (4000x). Surface deterioration of profile deformed fibers. Superficial microcracks appear.

Microfotografia al SEM (4000x). Deterioramento di superficie delle fibre, deformate nel profilo. Compaiono microcracks superficiali.

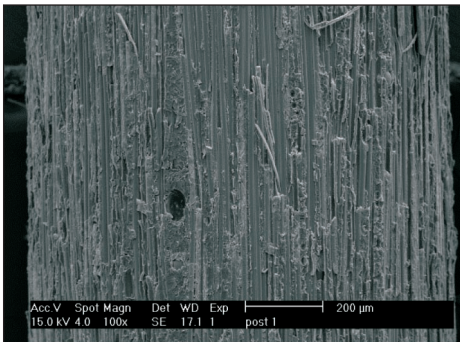


Fig. 16

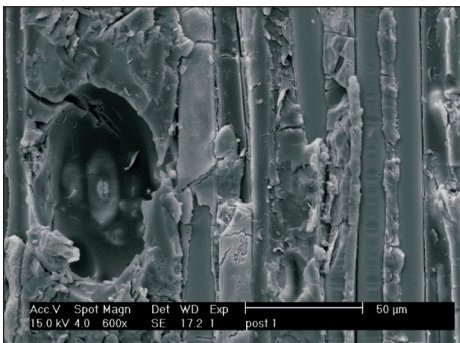


Fig. 17

Figs. 16-17 - SEM micrograph (100x and 600x). Quartz fibers show some transversal streaks and notches.

Microfotografie al SEM (100x e 600x). Le fibre di quarzo mostrano alcune mazzature e striature trasversali.

Test n° 6

15 seconds etching of glass fiber posts

1) FRC Postec (Ivoclar-Vivadent). The picture (Fig. 18) reproduces the surface after 10 sec etching. Micro-

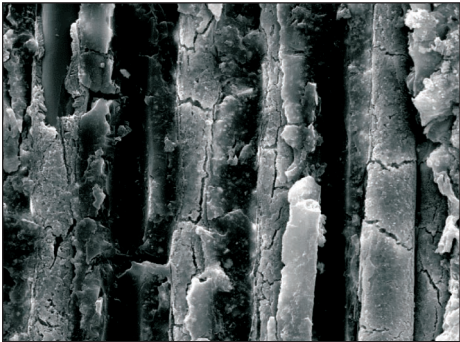


Fig. 18 - SEM micrograph (1000x). Glass fibers show omni-directional courses, some of which appear to involve the whole thickness.

Microfotografia al SEM (1000x). Le fibre di vetro mostrano microcracks a decorso omnidirezionale, alcuni dei quali appaiono a tutto spessore.

racks appear more numerous and their course is no longer only rectilinear and transversal, but also longitudinal and variously branched. Some microcracks seem to go deep all through the layer. It is impossible however to state definitely.

2) P6% (Ghimas) post. At low magnification (Fig. 19) the post particular surface structure is confirmed; it mainly consists of a resin layer covering the underlying fibers. On the right, a showy debond of a fiber/resin layer can be observed; other debonds are to be seen even at the post left margin. An involuntary damage cannot be excluded, but it must be underlined our care and attention in sample handling before and after etching. At higher magnification (Fig. 20) non-homogenous pictures of emerging fibers appear. Some look intact, others show anomalous courses and notches. In fact, they do not appear transversal or branched, like in most of tested posts, but arched and with clean cut borders.

Test n° 7

30 seconds etching of quartz fiber posts

1) Light Post (RDT). Fibers show numerous microcracks, generally at a certain distance from each other and with transversal course. Longitudinal and/or oblique microcracks are not frequent, as also are rare the variously branched ones. Only very few seem to affect the fiber depth; in any case they do not seem to in-

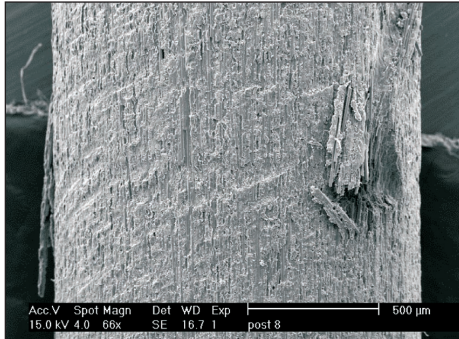


Fig. 19

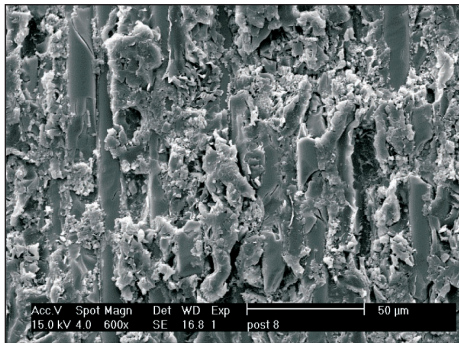


Fig. 20

Figs. 19-20 - SEM micrographs (66x e 600x). At low magnification, the post surface structure is well evidenced: fibers are extensively covered with resin. At higher magnification, some fibers, normal in aspect, show clean cut cracks and an anomalous arched course.

Microfotografie al SEM (66x e 600x). A piccolo ingrandimento si evidenzia bene la struttura superficiale del perno, nella quale le fibre sono estesamente ricoperte da resina. A forte ingrandimento su alcune fibre, d'aspetto normale, si notano incisure a bordi netti e dall'anomalo decorso arciforme.

volve the full thickness. Fiber profile shows, on the whole, very modest alterations (Fig. 21). The fiber layer is always uniform and compact.

- 2) Quartz Prototype post. After 30 sec etching the marked damage of quartz fibers is unquestionable and visible still at moderate magnification (Fig. 22). A number of microcracks, transversal and seemingly only superficial, appear along with actual fracture lines. At higher magnification (Fig. 23) the fracture of many fibers due to variable course cracks, some of which appearing deep and branched, can be observed. It does not seem possible to

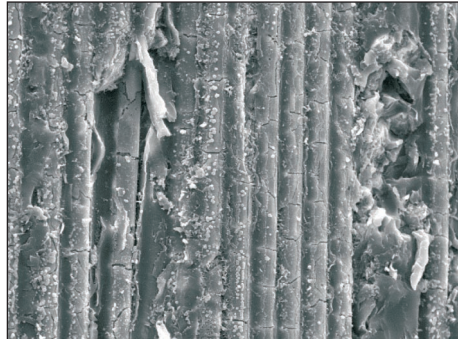


Fig. 21 - SEM micrograph (500x). Quartz fibers are arranged in a uniform and very compact layer and show transversal microcracks. However, they do not seem to go deep.

Microfotografia al SEM (500x). Le fibre di quarzo, disposte in uno strato uniforme e molto compatto, sono interessate da microcracks a decorso trasversale. Questi non sembrano però estendersi in profondità.

identify an underlying layer of intact fibers only limited to few points. That might indicate that fibers are fractured but mostly not yet fragmented and therefore not removable by handling after etching.

Test n° 8

30 second etching of glass fiber posts

- 1) FRC Postec (Ivoclar-Vivadent). Glass fibers show omni-directional microcracks and even full thickness fractures, which in several points make fibers fragmented. In some sectors, under a first layer, appears a second one characterized by intact fibers (Figs. 24 and 25). This datum, though evident, is not easy to be explained.
- 2) P6% (Ghimas) post. After 30 sec etching the fiber involvement becomes evident, but even in this case in non-homogeneous mode. Some fibers, unprotected by resin, show sharp cuts, in prevalence longitudinal along the mayor axis (another anomaly); others only show a deterioration of the surface, which becomes streaked and notched (Fig. 26).

Test n° 9

Over 30 seconds etching of quartz fiber and glass fiber post

When etching times are prolonged, the

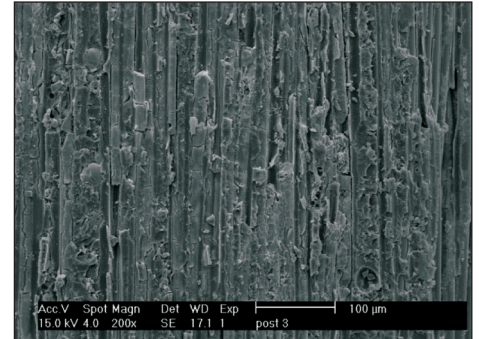


Fig. 22

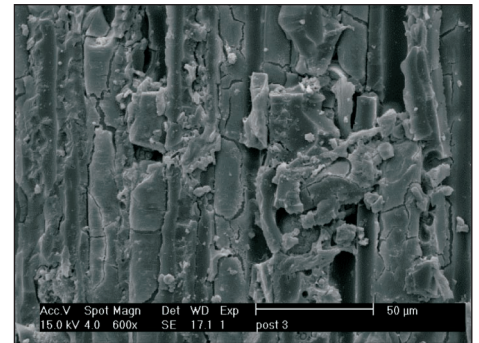


Fig. 23

Figs. 22-23 - SEM micrographs (200x and 600x). At limited magnification, many fibers appear affected by cracks; some of them are superficial and transversal, others clearly deeper. At higher magnification, variously oriented cracks and some real branched and deep fractures are well observable.

Microfotografie al SEM (200x e 600x). Già ad ingrandimento limitato molte fibre appaiono interessate da cracks, alcuni superficiali e trasversali, altri apparentemente più profondi. A ingrandimento più forte sono ben identificabili cracks variamente orientati e alcune vere e proprie fratture, ramificate e profonde.

microscopic exams become changeable and extremely variable. In fact, on a single post, highly deteriorated points appear, whereas in other areas deterioration is on the whole modest. In the only one glass fiber post we tested for 1 min and 2 min (FRC Postec) overlapping fiber layer often appear, which suggest that the surface layers were removed and the underlying layers came to surface. This phenomenon is not clearly identifiable in a quartz fiber posts (Light Post, RDT) submitted to the same etching times, even though the presence of two overlapping layers in some points is very probable.

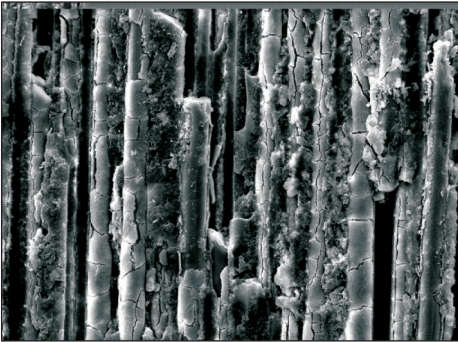


Fig. 24 - SEM micrograph (500x). Under a first layer of glass fibers, with numerous full thickness microcracks, appears a layer of fibers to all appearance undamaged.

Microfotografia al SEM (500x). Sotto un primo strato di fibre di vetro con numerosi microcracks a tutto spessore, appare uno strato di fibre in apparenza indenni.

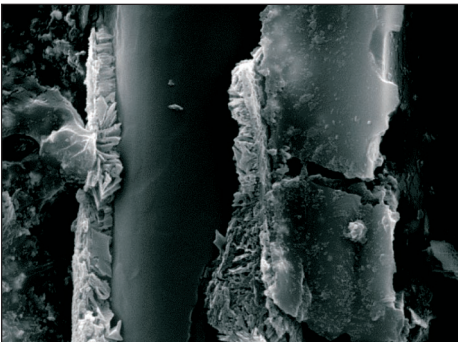


Fig. 25 - SEM micrograph (4000x). At higher magnification, an intact fiber is evident in a layer underneath the one showing a fiber broken up by fractures.

Microfotografia al SEM (4000x). Evidente a forte ingrandimento una fibra indenne in uno strato sottostante a quello che presenta una fibra disgregata da fratture.

DISCUSSION

The data collected through ultramicroscopic exams allow the following conclusion.

- The effects of hydrofluoric acid on quartz fibers and glass fibers are confirmed.
- The effects are variable, depending upon etching times. Surface alteration range from streaks, wrinkles, porosity and notches to microcracks. These last, when the treat-

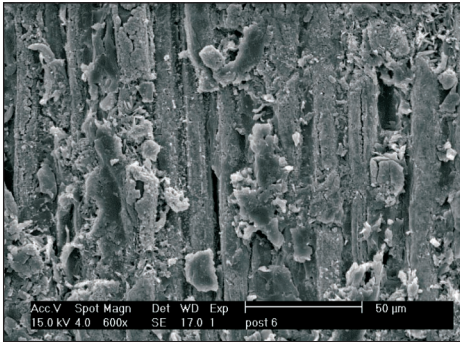


Fig. 26 - SEM micrograph (600x). Microcracks and longitudinal fractures appear, many of them however are covered by resin and consequently not reached by etching.

Microfotografia al SEM (600x). Appaiono microcracks e fratture longitudinali delle fibre, molte delle quali però sono coperte da resina e non sono di conseguenza raggiunte dalla mordenzatura.

ment is prolonged, become actual fractures leading to disruption and removal of fiber layer.

- The quartz fibers tested (Light Post, Prototype) have shown on the whole similar behaviour. Etching effect becomes evident after about 10 sec; after 12-15 sec surface alterations appear, which are able to give fibers higher micromechanic retention, without damaging them excessively. After 30 sec numerous microfractures appear, even all through the layer and branched. They indicate that, at these times, etching causes damages incompatible with a safe clinical use of the post.
- FRC Postec and P6% glass fiber post behaved quite differently. Even at very limited etching times (5 sec. only), FRC shows microcracks, some of which go very deep into or through the layer. It should not be undervalued the difficulty in keeping so strict times in clinical handling. 30 sec etching evidences a singular situation: the presence, in various points of fractured and even disrupted fibers, below which a layer of intact fibers appears. The interpretation of this result is uncertain. However, we think that the post rinsing and drying after etching can remove disrupted fibers, leaving uncovered an underlying intact layer not reached by acid. We deem

FRC Postec post etching should be avoided and possibly substituted for other methods.

As regards P6% post fibers, which the manufacturer define as “particular” and actually show a peculiar EDS-EDAX histogram, we have met quite different situation. First of all, the post structure itself, in which the resin matrix covers the fibers and constitutes the majority of the visible surface, making the fibers hardly and only very lightly attacked by the acid. That explains why at 5 and 10 sec no one effect is evidenced, at 15 sec only initial etching signs appear, and only at 30 sec a marked deterioration is evident. Such behaviour is more similar to the one of quartz fibers than that of the other glass fibers tested in this study. However, the fiber alteration are somewhat differing. In fact, we can see notches with arched and clean cut borders, and microcracks with mainly a non-transversal course but parallel to the fiber major axis which are not to be seen in quartz fibers. In our opinion etching of the surface of P6% (Ghimas) fiber post is to be considered of no or doubtful utility.

- At the present state of our research we deem it impossible to suggest general guidelines about the etching of aesthetic fiber-reinforced endodontic posts. In fact, if the tested quartz fibers behaved similarly, the same cannot be said of glass fibers. We may assume that with quartz fibers a 12-15 sec treatment is able to produce a surface microritenti-ty helpful for increasing cement-post interface retention (see pull-out resistance values test). However, the feeling that every post is peculiar brings us to the conclusion detailed in the following item.
- It would be to be very helpful if the manufacturers of glass fibers posts and quartz fiber posts would themselves treat posts with hydrofluoric acid. In this way, they would be able to value whether etching is appropriate and suitable or not, and the times of its carrying out. The data should be included in the specifications and use protocols, clearly explained in the instruction leaflet.

REFERENCES

1. Asmussen E, Peutzfeld A, Heitmann T. Stiffness, elastic limit and strength of newer types of endodontic posts. *J Dent* 1999; 27, 275-278.
2. Behr M, Rosentritt M, Betterman K, Handel G. Shear bond strength enhancement of the Glass fiber/resin interfaces using electron beam irradiation. *J Dent Res* 2003; 82, B-334, 2587.
3. Bitter K, Priehn K, Kanjuparambil J et al. Push-out tests of fiber posts luted with different resin cements. *IADR Joint Meeting, Istanbul 25-28 August, #0268, 2004.*
4. Goracci C, Monticelli F, Tavares A.U et al. The adhesion between fiber posts and composite resin cores: microtensile bond strength of different combination of materials. *J Dent Res* 2003; 82, # B-170, 1268.
5. Dallari A, Rovatti L, Dallari B, Mason PN. Adhesion of different composite to carbon and quartz fiber endodontic posts; *in vitro* studies and preliminary report. *J Dent Res* 2003; 82, # B-255, 1952.
6. Dallari B, Rovatti L, Dallari A. Etching quartz/glass fiber posts with hydrofluoric acid: SEM investigation IADR-CED. *Joint Meeting, Istanbul 25-28 August, # 0270, 2004.*
7. Damiani F, Vinello G, Bruno E. Cementazione di perni in fibra di quarzo. *Il Dentista Moderno* 2003; 3, 57-62.
8. Isidor F, Odman P, Brondum K. Intermittent loading of teeth restored using prefabricated carbon fiber posts. *Int J Prosthodont* 1996 ; 9, 131-136.
9. Mannocci F, Ferrari M, Watson TF. Intermittent loading of teeth restored using quartz fiber, carbon fiber and zirconium dioxide ceramic root canal posts. *J Adhes Dent* 1999; 2 153-161.
10. Monticelli F, Goracci C, Grandini S, et al. Scanning Electron Microscopic evaluation of fiber post-resin core unit. *J Dent Res* 2003; 82, # B-255, 1953.
11. Rovatti L, Dallari A. *Odontoiatria Conservatrice*; vol. II. *Edizioni Martina, Bologna. 2001.*
12. Rovatti L, Dallari A, Dallari B, Mason PN. Restauri estetici con perni endocanalari in fibre di quarzo. *Edizioni Martina, Bologna, 2004.*
13. Scotti R, Ferrari M. Perti in fibra. Presupposti teorici e applicazioni cliniche. *Masson Editore, 2002.*
14. Sen H, Schmager P, Nergiz I, Platzer U. Retentive bond strengths of FRC posts-bonded with 4 cements investigation. *IADR-CED Joint Meeting, Istanbul 25-28 August, # 0269, 2004.*
15. Severino D, Gargari M, Otaria L et al. Static and dynamic Photoelastic analysis of third generation endodontic posts. *J Dent Res* 2002; 81, # B-246, 124.

Carla Feline^{1,2}
Giuseppe Pitzolu^{1,2}
Marco Montanari^{1,2}
Giovanni D'Alessandro^{1,2}
Gabriela Piana^{1,2}

Università degli Studi di Bologna
Alma Mater Studiorum
¹Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Direttore: Prof. Carlo Prati
²Dottorato di Ricerca in Odontoiatria
per Disabili
Coordinatrice: Prof.ssa Gabriela Piana

Corrispondenza:
Dott. Marco Montanari
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
"Alma Mater Studiorum"
Università degli Studi di Bologna
Via San Vitale, 59
40125 Bologna
E-mail: montmarc@virgilio.it

Stato dell'arte sull'uso dei sigillanti nella pratica clinica

State of art on the sealants' use in the clinical practice

RIASSUNTO

La salute orale è una condizione necessaria da raggiungere in tutti i soggetti, in particolar modo nei bambini e nei pazienti disabili, in cui sono presenti problematiche relative al mantenimento di una igiene orale corretta, spesso a causa di una scarsa manualità.

La prevenzione primaria, effettuata con una corretta igiene orale, una corretta alimentazione, l'utilizzo di fluoro e la sigillatura dei solchi, delle fessure e dei fori ciechi, è in grado di ridurre il rischio di carie, quindi di migliorare la qualità di vita del paziente.

Scopo di questa *review* è identificare lo stato dell'arte sull'utilizzo dei sigillanti, focalizzando l'attenzione su due punti fondamentali:

- i differenti materiali presenti sul mercato;
- le categorie di pazienti in cui è indicata la sigillatura.

Parole chiave:

Sigillanti, solchi e fessure, rischio di carie, resine composite, cementi vetro-ionomerici, mordenzatura dello smalto.

ABSTRACT

The oral health is a necessary condition to reach in everyone, especially in children and in people with special care, who presented problems about proper

oral hygiene, often because of a lack of manual ability.

Primary prevention, with a correct oral hygiene, a correct diet, fluoride use and sealant of pit and fissure, is able to reduce caries risk and so to improve patient's quality of life.

The objective of this review was to identify state of art on sealant's use.

Two fundamental points were analyzed:

- Different materials actually used;
- The patients in which is indicated the sealant technique.

Key words:

Sealants, pit and fissures, caries risk, composite resin, glass ionomer cements, enamel etching.

INTRODUZIONE

LA MALATTIA CARIOSA

La carie è una patologia infettiva ad eziologia multifattoriale che colpisce i tessuti duri del dente, provocandone la demineralizzazione (Edelstein, 2006). L'identificazione del grado di rischio individuale di ammalare di carie è fondamentale per un'efficace prevenzione, per formulare una diagnosi precoce e per impostare un programma terapeutico ottimale (Anusavice, 2001).

I soggetti che presentano un elevato rischio devono essere trattati con un articolato approccio che prevede: utilizzo di fluoro topico e sistemico, agenti antibatterici (clorexidina), controllo della placca con strumenti meccanici, corret-

ta alimentazione e intercettazione delle abitudini viziate (Bjarnason et al., 1997).

L'analisi della letteratura evidenzia che:

- il 45% di tutti i processi cariosi degli elementi dentali permanenti interessa preferenzialmente le superfici occlusali (Anusavice, 2001);
- anche in comunità che assumono quantità ottimali di fluoro (indipendentemente dalla modalità di somministrazione) si evidenzia una elevata prevalenza di processi cariosi a livello di solchi e fessure;
- le applicazioni topiche di fluoro, molto efficaci sulle superfici lisce, hanno scarsa efficacia a livello dei solchi e delle fessure.

Per la diagnosi della patologia cariosa sono utilizzabili sistemi visivi, tattili e radiografici.

L'esame visivo di una lesione non cavitaria dello smalto permette una diagnosi corretta solo nel 12% dei casi, mentre facendo uso di sistemi ingrandenti 3.25X la probabilità è del 42% (Forgie et al., 2000).

Di routine l'ispezione tattile viene effettuata con lo specchio e l'impegno dello strumento identifica una lesione cariosa. Tale metodica è ritenuta non affidabile perché notevolmente influenzata dalla anatomia delle superfici e dei solchi e dalla forza impressa dall'operatore (Baelum et al., 2006). Inoltre, l'azione meccanica della punta dello specchio può creare nuove lesioni e quindi aumentare il rischio di ammalare di carie. Con l'utilizzo di una sonda a punta smussa la probabilità di diagnosticare correttamente una lesione cavitaria dello smalto è di circa il 70%; con una son-

da acuminata è di circa il 60% (Anusavice, 2001).

In caso di lesioni occlusali non cavitarie, l'esame radiografico (*bite-wing*) permette una percentuale di corretta diagnosi pari al 45% (Baelum et al., 2006). Il sistema più efficace per diagnosticare lesioni non cavitarie sembra essere il laser (Diagnodent, Kavo), permettendo corretta diagnosi nell'87% dei casi (Anusavice, 2001). Gli elevati costi rendono comunque questa metodica poco diffusa nella pratica clinica.

In conclusione, l'utilizzo in sequenza di più sistemi diagnostici appare l'approccio più efficiente: ispezione visiva con ingrandimento su campo asciutto e correttamente illuminato, ispezione tattile con sonda a punta smussa, esame radiografico in caso di dubbio diagnostico.

I SIGILLANTI E LORO EVOLUZIONE NEL TEMPO

I sigillanti sono "materiali resinosi da posizionare nei solchi e nelle fessure dei denti posteriori per prevenire o arrestare la progressione della malattia cariosa" (Welbury et al., 2004).

Sono stati introdotti negli anni '60 in seguito agli studi di Buonocore sulla mordenzatura acida dello smalto e sull'utilizzo di materiali resinosi in campo conservativo. Buonocore introdusse il primo sigillante, *Nuva-Seal*, che, attivato dalla luce ultravioletta, induriva rimanendo "adeso" al dente. Ad un anno dall'applicazione venne riscontrata una diminuzione dell'87% dell'incidenza della patologia cariosa e una ritenzione completa del sigillante del 71% (Buonocore, 1971).

Nel tempo i sigillanti hanno dimostrato di possedere un ruolo importante non solo nella prevenzione ma anche nel controllo della carie dentale a livello dei solchi e delle fessure dei molari e premolari (Cochrane review, 2004). Il loro successo e la loro efficacia è legata alla capacità di agire come barriera, impedendo l'arrivo di nutrienti a batteri presenti all'interno del solco (Yildiz et al., 2004).

L'uso di prodotti fluorati come pre-trattamento delle superfici dentali è stato per diverso tempo ritenuto un elemento peggiorativo delle caratteristiche dei sigillanti in termini di ritenzione. Ciò

nonostante è stato dimostrato che l'utilizzo dei sigillanti può avvenire immediatamente dopo l'applicazione di fluoro senza nessuna alterazione nella forza di legame (Warren et al., 2001).

Per molti anni l'uso dei sigillanti è stato esteso a tutti i solchi e le fessure dei molari e premolari neoerotti senza alcuna valutazione del reale rapporto costo/beneficio (Feigal et al., 2002).

L'*American Academy of Pediatric Dentistry* (AAPD) nel 2002 ha fornito indicazioni specifiche sull'uso dei sigillanti, sulla base dei seguenti fattori:

- suscettibilità alla carie del singolo paziente;
- tempo trascorso dall'eruzione del dente;
- età del paziente;
- anatomia dell'elemento.

Per ottenere il miglior rapporto costo/beneficio è imperativo determinare il rischio di carie del singolo individuo e sigillare solo gli elementi dentali più suscettibili (Badovinac et al., 2005; Cochrane review, 2004).

Solchi e fessure presentano un alto rischio di ammalare di carie al momento dell'eruzione a causa dell'incompleta mineralizzazione dello smalto, che termina solo quando l'elemento viene a contatto con l'ambiente orale. È comunque consigliabile monitorare nel tempo i solchi e le fessure e, quando indicato, effettuare la sigillatura anche in età adulta dal momento che il rischio varia nel corso della vita in relazione a modificazioni di abitudini alimentari, livello di igiene orale domiciliare, qualità e quantità della microflora orale, condizioni fisiche (Feigal et al., 2002, 2006; Cochrane review, 2004).

Nel *Reference Manual* del 2004-2005, l'AAPD ha identificato tre livelli di rischio di ammalare di carie, in base alla valutazione delle condizioni cliniche del singolo paziente e alle sue caratteristiche economiche e sociali (Tab. 1).

Le sigillature sono indicate in tutti i pazienti che presentano livelli di rischio elevato e medio di ammalare di patologia cariosa. Nei pazienti classificati a basso rischio, la sigillatura è consigliata in elementi dentali con condizioni anatomiche particolari, come fessure profonde e fori ciechi accentuati, difficili da detergere (Leake et al., 1997).

Una particolare attenzione va rivolta ai pazienti con disabilità fisiche e/o psi-

chiche e/o mediche. In questa fascia di popolazione gli interventi di prevenzione sono di fondamentale importanza sin dalla diagnosi della patologia sistemica. In tali pazienti l'uso dei sigillanti assume un elevato valore come misura preventiva atta a mantenere lo stato di salute del cavo orale e migliorare le condizioni di vita del soggetto.

MATERIALI E METODI

I materiali utilizzati per la sigillatura dei solchi e delle fessure sono stati recentemente classificati in due gruppi (Cochrane, 2004):

1. materiali resinosi;
2. cementi vetro-ionomerici (CVI):
 - classici;
 - modificati con resina.

In questa *review* sono stati esclusi i compositi fluidi, in quanto impiegati nella sigillatura terapeutica, tecnica utilizzata qualora esista il sospetto di carie all'interno del solco, che prevede l'apertura ispettiva dei solchi mediante appropriate frese da fissurotomia.

Materiali resinosi

I materiali resinosi hanno subito importanti evoluzioni nel tempo e possono essere classificati in "generazioni". Da materiali ad attivazione mediante luce ultravioletta, come ad esempio il Delton (Ash, Dentsply), si è arrivati a materiali attivati da luce alogena, come il Concise (3M-ESPE) che, seppur introdotto nel 1976, è attualmente ancora usato, e infine a sigillanti resinosi a rilascio di fluoro, come l'Helioseal F (Ivoclar-Vivadent).

I sigillanti resinosi sono distinti in base al carico (con/senza riempitivi) e in base al colore (trasparenti/opachi) (Cochrane review, 2004).

La quantità di riempitivo influenza la penetrazione e lo scorrimento del materiale, soprattutto in caso di solchi e fessure stretti e profondi. Un materiale poco caricato produce un sigillo più efficace (Irinoda et al., 2000), ma si abrade più facilmente. Un materiale più caricato è più resistente all'usura e richiede un controllo dei contatti occlusali al termine della sigillatura (Tillis et al., 1992).

RISCHIO	CONDIZIONI CLINICHE	CARATTERISTICHE SOCIO-COMPORTAMENTALI
BASSO	<ul style="list-style-type: none"> - nessuna esperienza di carie negli ultimi 24 mesi - nessuna demineralizzazione dello smalto ("white-spot lesions") - assenza di placca visibile; assenza di gengivite 	<ul style="list-style-type: none"> - esposizione ottimale al fluoro (sistemica e topica) - consumo di zuccheri e cibi zuccherati solo durante i pasti - stato socio-economico elevato - igiene orale domiciliare regolare e visite odontoiatriche periodiche
MODERATO	<ul style="list-style-type: none"> - esperienza di carie negli ultimi 24 mesi - 1 area di demineralizzazione dello smalto ("white-spot lesions") - gengivite 	<ul style="list-style-type: none"> - esposizione al fluoro topica ottimale ma non sistemica - occasionale (1-2) consumo di zuccheri semplici e cibi cariogeni fuori dai pasti principali - stato socio-economico medio - visite odontoiatriche irregolari
ELEVATO	<ul style="list-style-type: none"> - esperienza di carie negli ultimi 12 mesi - più di 1 area di demineralizzazione dello smalto ("white-spot lesions") - placca visibile sui denti anteriori - carie dello smalto (radiografia) - titolo elevato di <i>S. mutans</i> - apparecchi ortodontici - ipoplasie dello smalto - bambini con particolari necessità, bambini affetti da patologie sistemiche croniche - quadri clinici connessi alla patologia di base - assunzione cronica di farmaci - abitudini viziate correlate alla patologia di base - flusso e/o composizione salivare alterati 	<ul style="list-style-type: none"> - fluoroprofilassi non ottimale - frequente (3 o più) consumo di zuccheri semplici e cibi cariogeni fuori dai pasti principali - stato socio-economico basso - visite odontoiatriche scarse/nulle - carie attive nella madre - minoranze etniche, immigrati - scarso accesso alle strutture odontoiatriche - alimentazione ricca di zuccheri - scarsa attenzione nei confronti della salute orale (effetto alone) - scarsa igiene orale

Tab. 1: Valutazione del rischio di ammalare di carie.
Evaluation of caries risk.

Per quanto riguarda il colore, i primi sigillanti erano trasparenti e questo li rendeva difficili da gestire nella pratica clinica. I moderni sigillanti presentano la peculiarità di modificare il loro colore a seguito del processo di polimerizzazione. Ne sono un esempio l'Helioseal (Ivoclar-Vivadent) che cambia colore dal bianco al verde o il Clinpro (3M-Espe) che vira dal rosa al bianco. Per amplificare l'effetto preventivo sono stati perfezionati i sigillanti resinosi contenenti fluoro. L'analisi della letteratura ha però dimostrato che tali materiali hanno una minore durata rispetto ai sigillanti classici. L'Helioseal F, sigillante a rilascio di fluoro, ha evidenziato una perdita totale a 3, 6, 12, 24 mesi dai siti trattati in una percentuale di casi maggiore rispetto al Concise, un

sigillante classico (Yildiz et al., 2004). La scarsa ritenzione di tali materiali può essere causata dalla rapida formazione di fluoruro di calcio che ostacola l'adesione allo smalto (Yildiz et al., 2004). Inoltre, il rilascio di fluoro non è costante nel tempo: la maggior parte del fluoro viene rilasciata nel periodo immediatamente seguente il posizionamento del materiale per poi decadere velocemente (García-Godoy et al., 1997). In letteratura solo pochi studi *in vitro* hanno dimostrato la capacità del fluoro rilasciato da tali materiali di depositarsi nello smalto adiacente (Hicks et al., 1998), non evidenziando importanti vantaggi rispetto ai sigillanti classici. Tuttavia è documentata la possibilità di tali materiali di "ricaricarsi", ossia assorbire fluoro dall'ambiente orale

per poi rilasciarlo successivamente (Hicks et al., 2000).

Cementi vetro-ionomerici (CVI)

I CVI sono stati proposti per la sigillatura fin dalla loro introduzione sul mercato. Presentano tre importanti caratteristiche (Poulsen et al., 2006):

- capacità di rilasciare fluoro nell'ambiente orale;
- legame chimico tra il gruppo carbossilico dell'acido poliacrilico e la componente minerale del dente;
- scarsa sensibilità nei confronti dell'umidità.

Quest'ultima caratteristica rende tali materiali molto utili nei casi di sigillatura dei denti non completamente erotti e ad alto rischio di carie, in cui non sia possibile isolare correttamente

l'elemento mediante l'applicazione della diga di gomma. In questi casi è consigliato eseguire una sigillatura provvisoria con un CVI e successivamente, ad eruzione completata, effettuare la sostituzione con un sigillante resinoso. Un materiale molto usato nella pratica clinica per questo scopo è il Fuji VII, un CVI non rinforzato di colore rosa la cui polimerizzazione può essere accelerata mediante l'utilizzo di una lampada alogena o al plasma. In letteratura è riportato un buon adattamento marginale (Herle et al., 2004) ed il rilascio di elevate quantità di fluoro anche in ambienti a differente valore di pH salivare (2, 5, 7) (Gandolfi et al., 2006). Questa caratteristica è molto utile nei bambini con valori di pH salivare bassi che presentano un elevato rischio di ammalare di carie (Gandolfi et al., 2006). Sebbene non sia necessario mordenzare lo smalto prima di applicare il Fuji VII, è consigliato un condizionamento della superficie mediante una soluzione di acido poliacrilico al 20%, per ottenere una maggior forza di legame pur con una ridotta demineralizzazione dello smalto (Garcia-Godoy et al., 1997). Infatti tale metodica permette la rimozione dello *smear layer* ed il mantenimento di una sufficiente quantità di idrossiapatite disponibile per il legame chimico con il materiale stesso.

Numerosi studi hanno valutato la ritenzione dei CVI rispetto ai sigillanti convenzionali, giungendo alla conclusione che i primi assicurano un minor grado di ritenzione (Papacchini et al., 2005; Poulsen et al., 2001) e presentano caratteristiche meccaniche e di usura inferiori. Queste caratteristiche sono state migliorate, anche se in maniera non significativa, con l'introduzione di CVI rinforzati con monomeri resinosi a base di HEMA (Pardi et al., 2004; Futatsuki et al., 2001).

Ritenzione

La completa ritenzione del sigillante, in rapporto alla sua durata, è il principale criterio clinico di valutazione della sua efficacia preventiva (Mejare et al., 2003). Ahovuo-Saloranta et al. hanno descritto una riduzione dell'incidenza di carie dell'86% a 12 mesi e del 57% a 48-54 mesi dall'applicazione (Cochrane review, 2006). La Cochrane review del 2006 mostra inoltre che, in bambini di

età compresa tra 5 e 10 anni, i molari permanenti sigillati hanno presentato, dopo 4-5 anni, una riduzione della carie superiore al 50%.

Uno studio a lungo termine evidenzia che dopo 8 anni nell'80% dei casi il sigillante è totalmente *in situ*, nel 16% è ancora parzialmente *in situ* in assenza di carie, e che dopo 10 anni solo il 6% delle fessure sigillate è interessato da lesioni cariose o restauri (Wendt e Koch, 2001). Questo studio dimostra che la sigillatura è un trattamento efficace ed ha un basso grado di fallimento.

Uno studio a 15 anni (Simonsen, 2002) in cui è stato utilizzato un sigillante autopolimerizzante, evidenzia nel 28% dei casi una completa ritenzione; nel 35% dei casi una parziale ritenzione in assenza di carie.

I sigillanti resinosi, grazie all'elevata ritenzione, hanno un migliore effetto preventivo rispetto ai CVI. La ritenzione dei CVI a 24 mesi è del 9%, mentre a 36 mesi è del 3% (Poulsen et al., 2001). Non è stata invece evidenziata una differenza statisticamente significativa tra la ritenzione dei materiali auto- e fotopolimerizzabili. I sigillanti fotopolimerizzabili senza fluoro hanno dimostrato una ritenzione a 48 mesi significativamente più alta rispetto a quelli contenenti fluoro (RR = 0.80, 95% CI: 0.72-0.89) (Turpin-Mair & Gardiner, 1998; Lygidakis & Oulis, 1999). Tali studi sono stati effettuati senza tenere in considerazione la quantità di riempitivo presente all'interno dei sigillanti confrontati (Muller-Bolla et al., 2006); da qui la necessità di ulteriori studi in proposito.

LINEE GUIDA DI UTILIZZO DEI SIGILLANTI

Nonostante i progressi merceologici, la procedura da utilizzare per effettuare una sigillatura è rimasta sostanzialmente invariata da più di 10 anni (Waggoner et al., 1996).

1. PULIZIA DELLA SUPERFICIE: è necessaria un'adeguata detersione dei solchi e delle fessure prima dell'applicazione del sigillante. Numerose metodiche sono state proposte per la preparazione dello smalto. Alcuni Autori sostengono che la sola applicazione del mordenzante sia sufficiente a detergere adeguatamente la superficie di smalto, altri consigliano il preventivo spazzolamento con

acqua e pomice (Harris & Garcia-Godoy, 1999).

Uno studio comparativo (Gillcrist et al., 1998) ha messo a confronto la pulizia a secco dello smalto con la pulizia mediante strumenti rotanti e pasta da profilassi, non riscontrando differenze significative. Questi risultati suggeriscono che lo spazzolamento a secco effettuato dall'operatore può essere una valida alternativa all'uso di strumenti rotanti e pasta da profilassi.

Per la pulizia dello smalto è stato proposto l'utilizzo del Prophyl-Jet, un sistema abrasivo ad aria, che utilizza una soluzione di bicarbonato di sodio (anziché il più abrasivo ossido di alluminio); il Prophyl-Jet, combinato con la mordenzatura, ha dato risultati superiori in termini di ritenzione e di penetrazione del sigillante (Knobloch et al., 2005). Tuttavia il suo utilizzo è scarso nella pratica clinica, probabilmente per l'eccessivo costo delle apparecchiature e per la complessità della procedura.

Garcia-Godoy e De Araujo (1994) hanno dimostrato che una leggera ameloplastica a livello dei solchi e delle fessure occlusali (tecnica chiamata EST) permette una più profonda penetrazione ed un maggior adattamento del sigillante. Questa tecnica, mediante l'utilizzo di appropriate frese di dimensioni ridotte, produce una maggiore superficie per la ritenzione del sigillante. Tuttavia è consigliato l'utilizzo della EST ai soli casi di apertura ispettiva, in cui esistano cioè dei dubbi diagnostici.

2. ISOLAMENTO DEL CAMPO CON DIGA DI GOMMA: l'adeguato isolamento è l'aspetto più critico dell'applicazione dei sigillanti (Harris & Garcia-Godoy, 1999; Barroso et al., 2005). Se le porosità dello smalto, create dalla mordenzatura, vengono contaminate dalla saliva non è possibile ottenere una corretta adesione e, conseguentemente, ritenzione e sigillo. Inoltre, la contaminazione salivare dello smalto mordenzato crea precipitazione di glicoproteine, che abbassano ulteriormente la qualità dell'adesione (Donnan & Ball, 1988).

3. **MORDENZATURA DELLO SMALTO:** l'acido più usato è l'ortofosforico ad una concentrazione compresa tra il 30% e il 50% per un tempo pari a 60 sec. Tempi di mordenzatura diversi non hanno mostrato differenze in termini di forza di legame e di ritenzione del sigillante (Duggal et al., 1997).
4. **LAVAGGIO E ASCIUGATURA:** il dente viene abbondantemente lavato per 30" e asciugato per 15" allo scopo di rimuovere il mordenzante creando così una superficie pulita, asciutta e con aspetto gessoso (Manton & Messer, 1995), favorevole alla penetrazione del sigillante (Papacchini et al., 2005).
5. **APPLICAZIONE DEL SIGILLANTE:** mediante specillo o microbrush, il sigillante viene applicato sui solchi e sulle fosse del dente. Dopo 10" di attesa, per favorire la completa penetrazione del materiale, si polimerizza con lampada per il tempo indicato dalla casa produttrice. Prima della rimozione della diga di gomma, viene verificata l'effettiva polimerizzazione del materiale mediante sonda.
6. **RIMOZIONE DELLA DIGA DI GOMMA E CONTROLLO DELL'OCCLUSIONE.** Dopo la rimozione della diga di gomma viene controllata l'occlusione con una cartina da articolazione.

FOLLOW-UP

In letteratura è consigliato un follow-up di controlli per verificare lo stato degli elementi sigillati. L'integrità marginale e la ritenzione delle sigillature devono essere controllate nel tempo ed il materiale deve essere riapplicato in caso di perdita di tali caratteristiche (Wendt et al., 2001).

Feigal (1998) evidenzia come, per evitare fenomeni di infiltrazione marginale,

ogni anno andrebbero sostituite il 5-10 % delle sigillature (Feigal, 1998).

Le superfici sigillate devono essere attentamente monitorate sia clinicamente che radiograficamente. Le *bite-wing* dovrebbero essere ripetute frequentemente nei pazienti con elevato rischio di carie o quando la diagnosi di carie sia dubbia (Rushton et al., 1996).

Un attento follow-up assicura una percentuale di successo a 5 anni di distanza pari all'80-90% (Wendt et al., 2001).

Il fallimento della sigillatura

Le cause del fallimento dei sigillanti possono essere (Hitt & Feigal, 1992):

- inadeguata preparazione della superficie dello smalto;
- contaminazione salivare della superficie mordenzata;
- presenza di uno strato di smalto aprismatico dopo la mordenzatura;
- errori nell'applicazione del materiale;
- bassa resistenza del materiale all'usura.

Uno studio *in vivo* ha concluso che la principale causa di insuccesso a breve termine è la contaminazione salivare della superficie mordenzata (Hobson & McCabe, 2002), responsabile di una scarsa penetrazione del materiale all'interno delle microporosità create sulla superficie di smalto, con conseguente scarsa ritenzione e perdita del sigillo marginale (Hitt & Feigal, 1992; Borem & Feigal, 1994). Da qui l'importanza dell'utilizzo della diga di gomma per ottenere risultati positivi nel tempo.

La riparazione del sigillante

Se parte del materiale viene perso, è possibile e necessario effettuare la riparazione della sigillatura. Tale procedura prevede:

- isolamento con diga di gomma;
- mordenzatura per 60 sec. del sigil-

lante *in situ* in modo da rimuovere la contaminazione presente;

- lavaggio con acqua per 10 sec.;
- asciugatura con aria per 10 sec.;
- posizionamento del nuovo materiale (vedi tecnica precedentemente descritta).

In letteratura non c'è evidenza sul metodo più efficace per trattare la superficie smaltea prima di risigillarla. Srinivasan et al. (2005) hanno messo a confronto quattro diverse tecniche di riparazione: la tecnica più efficace è risultata essere la deterzione della superficie con spazzolino rotante a bassa velocità e pasta da profilassi seguita dalla mordenzatura dello smalto.

CONCLUSIONI

La sigillatura è una metodica efficiente nella prevenzione della patologia cariosa in quanto semplice da eseguire e con buoni risultati, quando ci si attenga alle regole (isolamento del campo con diga di gomma, adeguati tempi di mordenzatura e polimerizzazione del materiale) e quando venga attuato un corretto follow-up. Per ottimizzare il rapporto costo/beneficio è molto importante individuare il reale rischio di carie di un soggetto. La sigillatura è fortemente raccomandata nei pazienti affetti da disabilità fisica o psichica, nei soggetti con anomalie strutturali a carico dei tessuti mineralizzati del dente e nei soggetti con un dmft/DMFT molto elevato.

In casi particolari è raccomandata l'esecuzione delle sigillature anche in età adulta dal momento che il rischio di ammalare di carie può variare nel corso della vita (abitudini alimentari, livello di igiene orale domiciliare, qualità della microflora orale, condizione fisica).

BIBLIOGRAFIA

1. Ahovuo-Saloranta A, Hiiri A, Nordblad A, Worthington H, Makela M. Pit and fissure sealants for preventing dental decay in the permanent teeth of children and adolescents. *The Cochrane Library* 2004, Issue 2.
2. Anusavice KJ. Caries risk assessment. *Oper*

Dent 2001; 6:19-26.

3. Badovinac RL, Morgan KE, Lifetree J, Wadhawan S, Mucci L, Schoeff L, Douglass CW. Risk assessment criteria applied to a screening exam: implications for improving the efficiency of a sealant program. *J Public*

Health Dent 2005; 65:203-208.

4. Baelum V, Heidman J, Nyvad B. Dental caries paradigms in diagnosis and diagnostic research. *Eur J Oral Sci* 2006; 114:263-277.

5. Barroso JM, Torres CP, Lessa FC, Pecora

- JD, Palma-Dibb RG, Borsatto MC. Shear bond strength of pit and fissure sealants to saliva-contaminated and noncontaminated enamel. *J Dent Child* 2005; 72:95-99.
6. Borem LM, Feigal RJ. Reducing microleakage of sealants under salivary contamination: digital-image analysis evaluation. *Quintessence Intern* 1994; 25:283-289.
7. Bjarnason S, Kohler B. Caries risk assessment in adolescents. *Swed Dent J* 1997; 21:41-48.
8. Buonocore MG. Caries prevention in pits and fissures sealed with an adhesive resin polymerised by ultraviolet light; a two-year study of a single adhesive application. *JADA*, 82, 1090, 1971.
9. Donnan MF, Ball A. A double-blind clinical to determine the importance of pumice prophylaxis on fissure sealant retention. *Br Dent J* 1988;166:283-6.
10. Duggal MS, Tahmassebi JF, Toumba KJ, Mavromati C. The effect of different etching times on the retention of fissures sealant in second primary and first permanent molars. *Int J Paediatr Dent* 1997; 7:81-86.
11. Edelstein BL. The Dental Caries Pandemic and Disparities Problem. *BMC Oral Health* 2006; 6.
12. Feigal RJ, Donly KJ. The use of pit and fissure sealants. *Pediatr Dent* 2006;28(2): 143-50.
13. Feigal RJ. The use of pit and fissure sealants. *Pediatr Dent* 2002; 24 415-420.
14. Feigal RJ. Sealant and preventive restorations: review of effectiveness and clinical changes for improvement. *Pediatr Dent*. 1998; 20:85-92.
15. Forgie AH, Pine CM, Pitts NB. The use of 3.25 magnification for caries detection at the D1 threshold level *in vitro*: Accuracy and practicality in Stookey GK editor Early Detection of Dental Caries II Indianapolis Indiana University School of Dentistry 2000; 439-442.
16. Futatsuki M, Nozawa M, Ogata T, Nakata M. Wear of resin-modified glass-ionomers: an *in vitro* study. *J Clin Pediatr Dent* 2001; 25:297-301.
17. Gandolfi MG, Chersoni S, Acquaviva GL, Piana G, Prati C, Mongiorgi R. Fluoride release and absorption at different pH from glass-ionomer cements. *Dental Mater* 2006; 22:441-449.
18. Garcia-Godoy F, Abarzua I, De Goes MF, Chan DC. Fluoride release from fissure sealants. *J Clin Pediatr Dent* 1997; 22: 45-49.
19. Garcia-Godoy F, de Araujo FB. Enhancement of fissure sealant penetration and adaptation: the enameloplastic technique. *J Clin Pediatr Dent* 1994; 19:13-18.
20. Gillcrist JA, Vaughan MP, Plumlee GN, Jr, Wade G. Clinical sealant retention following two different tooth-cleaning techniques. *J Public Health Dent* 1998; 58:246-254.
21. Harris NO, Garcia-Godoy F. Primary preventive dentistry. 5th edition. London: Asimmon and Schuster Company;1999.
22. Herle GP, Joseph T, Varma B, Jayanthi M. Comparative evaluation of glass ionomer and resin based fissure sealant using non invasive and invasive techniques-a SEM and microleakage study. *J Indian Soc Pedod Prev Dent* 2004; 22:56-62.
23. Hicks MJ, Flaitz CM. Caries formation in vitro around a fluoride-releasing pit and fissure sealant in primary teeth. *ASDC J Dent Child* 1998; 65:161-168.
24. Hicks MJ, Flaitz CM, Garcia-Godoy F. Fluoride-releasing sealant and caries-like enamel lesion formation *in vitro*. *J Clin Pediatr Dent* 2000; 24:215-219.
25. Hiri A, Ahovuo-Saloranta, Nordbland A, Makela M. Pit and fissure sealants versus fluoride varnishes for preventing dental decay in children and adolescents. *The Cochrane Library*, 2006.
26. Hitt JC, Feigal RJ. Use of bonding agent to reduce sealant sensitivity to moisture contamination: an *in vitro* study. *Pediatr Dent* 1992; 14:41-46.
27. Hobson RS, McCabe JF. Relationship between enamel etch characteristics and resin-enamel bond strength. *Brit Dent J* 2002; 192:463-68.
28. Irinoda Y, Matsumara Y, Kito H, Nakano T, Toyama T, Nakagaki H. Effect of sealant viscosity on the penetration of resin into etched human enamel. *Oper Dent* 2000; 25:274-282.
29. Knobloch LA, Meyer T, Kerby RE, Johnston W. Microleakage and bond strenght of sealant to primary enamel comparing air abrasion and acid etch techniques. *Pediatr Dent* 2005; 27:463-469.
30. Leake JL, Main PA, Woodward GL. Developing evidence-based programme guidelines for children's dental care in a dental public health unit in Ontario, Canada. *Community Dent Health* 1997; 14:11-7.
31. Lygidakis NA, Oulis KI. A comparison of Fluoroshield with Delton fissure sealant: four-year results. *Pediatr Dent* 1999; 21:429-31.
32. Manton DJ, Messer LB. Pit and fissure sealants: another major cornerstone in preventive dentistry. *Aust Dent J* 1995 Feb; 40(1):22-9.
33. Mejare I, Lingstrom P, Petersson LG, Holm AK, Twetman S, Kallestal C et al. Caries-preventive effect of fissure sealants: a systematic review. *Acta Odontol Scand* 2003; 61:321-30.
34. Muller-Bolla M, Lupi-Pegurier L, Tardieu C, Tardieu C, Velly AM, Antomarchi C. Retention of resin-based pit and fissure sealants: A systematic review. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006;34(5):321-36. Review.
35. Papacchini F, Goracci C, Tranchesi Sadek F, Monticelli F, Garcia-Godoy F, Ferrari M. Microtensile bond strenght to ground enamel by glass-ionomer, resin-modified glass-ionomer, and resin composites used as pit and fissure sealants. *J Dent* 2005; 33:459-467.
36. Pardi V, Pereira Ac, Mialhe FL, Meneghim MC, Ambrosano GMB. Six year clinical evaluation of polyacid-modified composite resin used es fissure sealant. *J Clin Pediatr Dent* 2004; 28:187-192.
37. Poulsen S, Beiruti N, Sadat N. A comparison of retention and the effect on caries of fissure sealing with a glass-ionomer and a resin-based sealant. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001; 29:298-301.
38. Poulsen S, Laurberg L, Vaeth M, Jensen U, Haubek D. A field trial of resin-based and glass-ionomer fissure sealants: clinical and radiographic assessment of caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 2006; 34:36-40.
39. Rushton VE, Horner K, Worthington HV. Factors influencing the frequency of bitewing radiography in general dental practice. *Community Dent Oral Epidemiol* 1996; 24:272-276.
40. Simonsen RJ. Pit and fissure sealant: review of the literature. *Pediatr Dent* 2002; 5:393-414.
41. Srinivasan V, Deery C, Nugent Z. *In vitro* microleakage of repaired fissure sealants: a randomized, controlled trial. *Int J Paediatr Dent* 2005; 15:51-60.
42. Tillis TS, Stach DJ, Hatch RA, Cross-Poline GN. Occlusal discrepance after sealing therapy. *J Prosthet Dent* 1992; 68: 223-228.
43. Turpin-Mair JS, Gardiner D. Evaluation of caries following treatment with a fluoride-releasing sealant. *J Dent Res* 1998; 77:1022.
44. Waggoner WF, Seigal M. Pit and fissure sealants application: up clotting the tecnique. *J Am Dent Assoc* 1996;127(3):391-2. Review.
45. Warren DP, Infante NB, Rice HC, Turner SD, Chan JT. Effect of topical fluoride on retention of pit and fissure sealants. *J Dent Hyg* 2001;75(1):21-4.
46. Welbury R, Radaal M, Lygidakis NA. EAPD guidelines for the use of pit and fissure sealants. *Eur J Paediatric Dent* 2004; 3:179-184.
47. Wendt LK, Koch G, Birkhed D. On the retention and effectiveness of fissure sealant in permanent molars after 15-20 years: a cohort study. *Community Dent Oral Epidemiol* 2001; 29:302-307.
48. Yildiz E, Dorter C, Efes B, Koray F. A comparative study of two fissure sealants: a 2-year clinical follow-up. *J Oral Rehabil* 2004; 31:979-984.

available at www.sciencedirect.comjournal homepage: www.intl.elsevierhealth.com/journals/dema

Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives

Salvatore Sauro^{a,f,*}, David H. Pashley^b, Marco Montanari^a, Stefano Chersoni^a, Ricardo M. Carvalho^c, Manuel Toledano^d, Raquel Osorio^d, Franklin R. Tay^{b,e}, Carlo Prati^a

^a Department of Oral Sciences, Alma Mater Studiorum University of Bologna, Bologna, Italy

^b Oral Biology and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Medical College of Georgia, Augusta, GA 30912-1260, USA

^c Department of Operative Dentistry, Endodontics and Dental Materials, Bauru School of Dentistry, University of São Paulo, Bauru, São Paulo, Brazil

^d Department of Dental Materials, University of Granada, Granada, Spain

^e Paediatric Dentistry and Orthodontics, Faculty of Dentistry, The University of Hong Kong, Prince Philip Dental Hospital, 34 Hospital Road, Pokfulam, Hong Kong SAR, China

^f Department of Biomaterials, Guy's, King's and St. Thomas' Dental Institute, King's College London, London, UK

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 February 2006

Accepted 19 June 2006

Keywords:

Permeability

Water uptake

Hydrophilic polymers

Hybrid layer

Dentin bonding systems

Microtensile bond strength

Water droplets

SEM

ABSTRACT

Objectives. Dentin bonds made with one-bottle etch-and-rinse and self-etch adhesives are affected by the formation of interfacial blisters, porosities and deterioration. The first objective of this study was to evaluate the fluid flow through resin–dentin interfaces created by self-etching adhesives applied to deep dentin using a replica technique and by directly measuring dentin permeability (P). The second objective was to examine the effect of intrapulpal pressure on the microtensile bond strength of these adhesives.

Methods. A fluid-transport model was used to measure the fluid permeability (%P) through different adhesives. Impressions of bonded dentin were taken with a polyvinylsiloxane impression material to monitor fluid transudation from the surface of the adhesive. Positive replicas were fabricated for SEM examination. Two groups of resin-bonded specimens (pulpal pressure versus no pulpal pressure) were created for microtensile bond strength evaluation. Adhesive application was performed under 0 cm H₂O. Pulpal pressure group was submitted to 20 cm H₂O of pulpal pressure during build-up procedures.

Results. Clearfil Protect Bond exhibited the lowest permeability and fewest numbers of fluid droplets over the surface of the bonded dentin. G-Bond and Clearfil-S3 Bond were more permeable than Clearfil Protect Bond. One Up Bond F was the most permeable adhesive. A highly significant correlation was observed between the relative permeability of these adhesives (%P) and the number of fluid droplets on the adhesive surfaces. The application of pulpal pressure significantly reduced bond strength.

Significance. Resin–dentin bonds created by contemporary self-etch adhesives are susceptible to fluid permeation induced by pulpal pressure. HEMA-based adhesives showed the largest reductions in bond strengths after pulpal pressure application.

© 2006 Academy of Dental Materials. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

* Corresponding author. Tel.: +39 05127024; fax: +39 051225208.

E-mail address: salvatore.sauro@studio.unibo.it (S. Sauro).

0109-5641/\$ – see front matter © 2006 Academy of Dental Materials. Published by Elsevier Ltd. All rights reserved.

doi:10.1016/j.dental.2006.06.010

1. Introduction

Different classes of dentin–enamel bonding agents (DBAs) are now available to clinicians. Although simplified DBAs reduce the number of clinical steps involved in bonding [1,2], many of them are limited in their applications. In particular, most of these adhesives exhibited dramatic bond strength reductions after water storage [3,4].

Recent nanoleakage studies also demonstrated that simplified DBAs exhibited fairly severe water sorption [5], as manifested by the extensive silver tracer deposits seen within the hybrid and adhesive layers [6]. Water sorption is enhanced by the presence of hydrophilic and ionic resin or solvents. Water plasticizes polymer chains and lowers the mechanical properties of hydrophilic resins and promotes hydrolysis of resin and collagen fibrillar components [5,7,8]. Fluid movement within hybrid layers created by these DBAs has been demonstrated by the appearance of water droplets on the surface of cross-sections of polished resin–dentin interfaces [9]. Transudation of fluid across polymerized adhesives bonded to dentin has also been observed *in vitro* and *in vivo* when resin composite build-ups were absent [10]. Water uptake and release were also evident from restorative margins of cavities bonded with many of these adhesives [11,12]. The outward movement of dentinal fluid under a slight positive pulpal pressure can permeate polymerized hydrophilic adhesives. This water may interfere with the subsequent coupling of resin composite to these adhesives under a stimulated pulpal pressure.

The aim of this study was to evaluate the dentin permeability (*P*) and bond strength to deep dentin bonded with different self-etching DBAs and subsequently submitted to simulated pulpal pressure. The extent of fluid transudation across resin-bonded dentin was also examined with the use of an impression material replica technique to identify the relationship between adhesive permeability and its manifestation as fluid droplets on the adhesive surfaces. Two null hypotheses were tested: the first was that there is no correlation between the permeability of these DBAs and the quantity of fluid droplets identified on the surface of adhesives of bonded dentin. The second was that simulated pulpal pressure has no effect on the microtensile bond strength produced during the coupling of resin composite to self-etching adhesives.

2. Material and methods

2.1. Sample preparation

Extracted human molars (ages 20–40) were collected after informed consent had been obtained under a protocol approved by the Institutional Review Board the Department of Dental Sciences of the University of Bologna, Italy. The teeth were stored in 4 °C water for no more than one month. Forty crown segments, each with a minimal remaining dentin thickness of 0.7–0.8 mm, were obtained by first removing the roots at 1 mm beneath the cemento–enamel junction (CEJ) using a slow-speed water-cooled diamond saw (Remet, Bologna, Italy). The occlusal enamel of each crown segment was subsequently removed with a parallel cut at 1.5 mm above the

CEJ to expose the dentine. The exposed dentine was polished with 180 grit silicon carbide papers to create a standard bonding substrate in deep dentin. Pulpal tissue was removed from the exposed pulp chamber without altering the predentin surface. A pincer-type caliper was used for measurement of the remaining dentin thickness (RDT) that was between 0.7 and 0.8 mm. Each tooth section was attached to a Plexiglas platform (2 cm × 2 cm × 0.5 cm) that was perforated by an 18 gauge stainless steel tube using cyanoacrylate adhesive (ROCKET™ Heavy DVA, Corona, CA, USA). Each specimen was connected to a hydraulic pressure device (Fig. 1) that delivered 20 cm water pressure [13] during the measurement of the dentine permeability (*P*).

2.2. Bonding procedures

Four DBAs were examined in this study. They included a two-step self-etching primer/adhesive system, Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan) and three one-step self-etch adhesive systems, G-Bond (GC Corp., Tokyo Japan); One Up Bond F Plus (Tokuyama Corp., Tokyo, Japan) and Clearfil S3-Bond (Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan). Their compositions and pH values are listed in Table 1. Each DBA was applied as per manufacturer's instruction (Table 2). Light activation of the DBAs was performed using a halogen light-curing unit (XL-2500, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) with an output power intensity of 600 mW/cm², at a standardized distance of 5 mm from the bonding surface. All the tested DBAs were bonded while connected to the permeability device but in the absence of pulpal pressure application (Fig. 1).

2.3. Permeability measurement

Ten crown segments were used for each DBA. A smear layer was created on dentine surface using 180 grit-paper for 30 s under water irrigation.

The smear layer was subsequently removed by treating the dentine surface with 0.5 M EDTA solution (pH 7.4) for 5 min to evaluate the maximum fluid filtration of each specimen, which was arbitrarily assigned a value of 100% permeability. After measuring the initial maximum permeability (*P*), a smear layer was re-created on dentin surface in the manner previously described, before the application of the self-etching DBAs. The permeability of each specimen after dentin bonding was expressed as a percentage of the fluid flow through the unbonded, EDTA-etched dentine of the same specimen using the following equation:

$$\%P = \frac{\text{fluid filtration rate of resin-bonded dentine}}{\text{fluid filtration rate of unbounded EDTA-etched dentine}} \times 100$$

This represents the permeability exhibited by the resin-bonded dentine relative to its maximum EDTA-treated value, with each tooth serving as its own control.

Before measurements of fluid flow on the resin-bonded dentine, reference impressions of the adhesive surface were first taken before and after dentine perfusion at 20 cm H₂O pressure. The impression material employed was a low viscosity polyvinylsiloxane (President Light Body; Coltène AG,

*Sample Preparation for Microtensile Tests
after Simulated Intrapulpal Pressure*

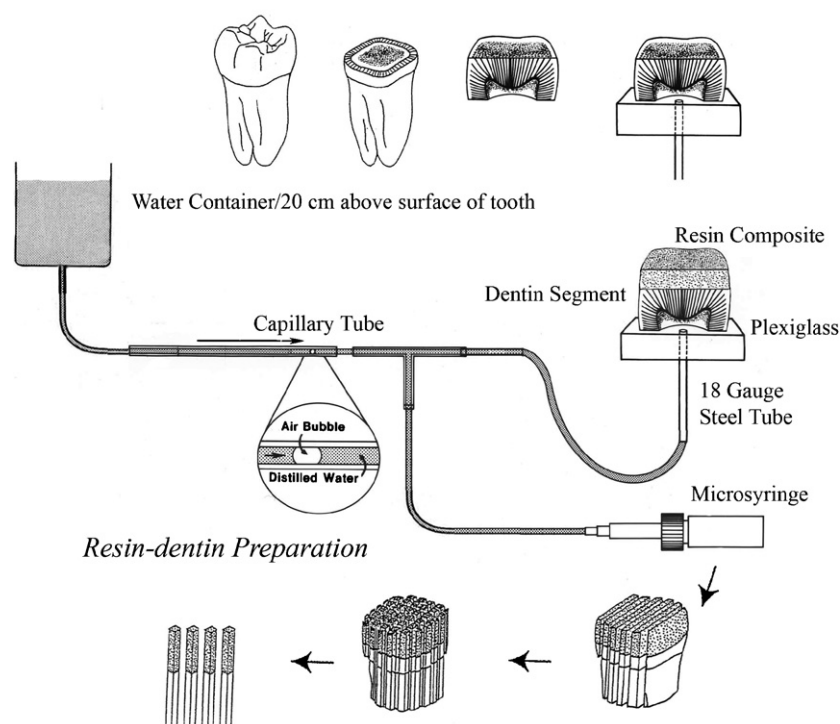


Fig. 1 – Schematic showing how crown segments were created, attached to plexiglass, how fluid permeability was measured under 20 cm H₂O pressure, and how bonded composites were reduced to resin–dentin beams for storage and/or microtensile bond tests.

Altstätten, Switzerland) with a relatively fast setting time of 3 min. Just prior to taking impressions, the sticky, unpolymerized oxygen-inhibition layer was removed from each bonded resin surface with a cotton pellet, to avoid interference with taking miniature impressions. These impressions were used for fabrication of replicas for scanning electron microscopy (SEM).

Fluid transudation through the resin-bonded dentin was performed according to the hydraulic conductance protocol reported by Pashley and Depew [14]. Briefly, fluid flow was measured by following the movement of an air bubble trapped within a 25 μ L capacity glass capillary tube (0.7 mm inside diameter) (Microcaps, Fisher Scientific, Atlanta, GA, USA) that was positioned between the pressure reservoir and the crown segment (Fig. 1).

The absolute fluid permeability (μ L/min at 20 cm H₂O) and the corresponding relative adhesive permeability (%P) obtained for the four adhesives bonded to dentine were statistically compared using a one-way analysis of variance (ANOVA) and Fisher's PLSD test with statistical significance set at $\alpha = 0.05$.

The experimental design involved measurement of fluid flow across EDTA-treated dentin, smear layer-covered dentin before bonding and then after bonding, under 20 cm H₂O pressure for a period of 10 min. Fluid flow measurement was conducted three times for each bonded specimen, from which the mean fluid flow rate was determined.

2.4. SEM examination

Positive replicas were fabricated from the polyvinylsiloxane impressions with a polyether impression material (Permadyne Garant, 3M/ESPE), according to the polyether replica technique reported by Chersoni et al. [9]. As there is no chemical reaction between polyether and polyvinylsiloxane, this replica technique has been shown to be an acceptable alternative to the more time-consuming epoxy resin replica technique. The polyether positive replicas were subsequently coated with gold and examined using an SEM (Model 5400, JEOL, Tokyo, Japan) at 5–10 kV. The number of “spherical elevations” along the replica surface per 20 μ m \times 35 μ m (i.e. 700 μ m² of surface area) at 3500 \times magnification, that corresponded to water droplets that accumulated on the surface of the resin-bonded dentin during the setting time (ca. 3 min) was recorded by two co-authors who did not participate in bonding and were unaware of the group designations. Digital photographs were made of the surface and a millimeter scale of each specimen after EDTA-treatment, while measuring the maximum permeability. This permitted identification of the exact regions of the dentin surface that were most permeable [15]. After making impressions of the entire flat coronal surface and casting replicas, these same sites were located on the replicas from the digital photographs using digital micrometers. Four non-overlapping 20 μ m \times 35 μ m micrographs were taken of each

Table 1 – Chemical composition, pH and source of tested adhesives

DBAs	Chemical composition	pH value
One Up Bond Plus (Tokuyama Corp., Tokyo, Japan)	Methyl methacrylate 2-Hydroxyethyl methacrylate Coumarin dye Methacryloyloxyalkyl acid phosphate Methacryloxyundecane 1,1 dicarboxylic acid Multi-functional methacrylic monomer Fluoroaluminosilicate glass, Photoinitiator (aryl borate catalyst) Water	~2
Clearfil S3-Bond (Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan)	2-Hydroxyethyl methacrylate Bis-phenol A diglycidylmethacrylate 10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate Silanated colloidal silica DL-Camphorquinone Ethyl alcohol Water	2.7
G-Bond (GC Corp., Tokyo, Japan)	4-Methacryloxyethyltrimellitate anhydride Triethylene glycol dimethacrylate Urethane dimethacrylate Acetone	>2
Clearfil Protect Bond (Kuraray Medical Inc., Tokyo, Japan)	10-Methacryloyloxydecyl dihydrogen phosphate Bis-phenol A diglycidylmethacrylate 2-Hydroxyethyl methacrylate Hydrophobic dimethacrylate DL-Camphorquinone N,N-Diethanol-p-toluidine Silanated colloidal silica Surface treated sodium fluoride	~2

permeable region at 3500× magnification. Each dentin surface had either three or four such permeable regions depending on if it were a maxillary or mandibular third molar. Replicas made on non-permeable sites such as the middle of the surface did not exhibit droplets even under positive pulpal pressure. Finally, the average and S.D. of water droplets was calculated for each specimen and for each adhesive group. The correlation between the mean relative adhesive permeability (%P) of the four DBAs, and the mean number of fluid droplets that appeared on the surfaces of the same resin-bonded dentine specimens was investigated using linear regression analysis with statistical significance set at $\alpha = 0.05$.

2.5. Microtensile bond strength evaluation

Human extracted third molars were also used for measurement of microtensile bond strength. Two principal groups of twenty specimens each were created (pulpal pressure versus no pulpal pressure) for each adhesive listed in Table 1. Since it has been demonstrated the pulpal blood flow is significantly reduced under local anaesthesia [16,17], the specimens in all groups were bonded after connection to the pressure device (Fig. 1) but without any actual delivery of pulpal pressure. Composite build-ups were made using a light-cured flowable resin composite (Gradia Direct LoFlo, GC Corp.) in five 1-mm incre-

Table 2 – Application procedures for the four DBAs investigated in the study

DBAs	Application mode	Adhesive classification
One Up Bond Plus	Dispense equal amounts of Liquid A and Liquid B and mix for 5 s. Apply the adhesive generously to thoroughly wet all cavity surfaces. Leave undisturbed for at least 20 s. Spread the adhesive uniformly using a gentle stream of oil-free air for 2 s. Light cure for 10 s.	One-step self-etching system
Clearfil S3-Bond	Apply the adhesive to dentin for 20 s. Air dry for 5 s to evaporate the solvent. Light cure for 20 s.	One-step self-etching system
G-Bond	Apply the adhesive using the micro-tip applicator and leave undisturbed for 10 s. Dry thoroughly for 5 s with oil-free air under maximum air pressure. Light-cure for 10 s.	One-step self-etching system
Clearfil Protect Bond	Primer: apply two consecutive coats and leave undisturbed for at least 20 s, evaporate solvent for 10 s. Bonding: apply two consecutive coats, spread the adhesive using a gentle stream of oil-free air for 2 s to spread the adhesive. Light cure for 20 s.	Two-step self-etching system

ments. Immediately after making the build-ups, the specimens in the *no pulpal pressure* group were sectioned perpendicular to the adhesive interfaces with the diamond saw under water cooling to produce resin–dentine beams, each with an adhesive cross-sectional area of approximately 1.0 mm².

In contrast, the specimens in the *pulpal pressure* group were submitted to 20 cm H₂O pressure for a period of 10 min after the adhesive was polymerized, during the bonding with the flowable resin composite. Subsequently, the specimens were immediately sectioned as previously described.

Five teeth were used for each adhesive group and six to eight beams from the central area of each specimen were selected per tooth, excluding the beams from the most peripheral area of the crown specimen samples. The beams were then attached with cyanoacrylate adhesive to a testing jig, and a tensile load was applied with a universal testing machine (Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA) at a crosshead speed of 0.9 mm/min until failure. The exact cross-sectional area of each tested beam was measured with a digital micrometer after bond failure. Beams that failed prematurely during specimen preparation were not included in the statistical analysis. The bond strength data were evaluated by a two-way ANOVA design with “adhesive type” and “presence/absence of pulpal pressure” as the two factors. Multiple comparisons were performed with the Fisher’s PLSD test. Statistical significance were set at $\alpha = 0.05$.

3. Results

3.1. Permeability measurements

Table 3 shows the permeability data of the resin-bonded deep dentin that were expressed as percentages of the maximum permeability in EDTA-etched dentin. Absolute fluid flow rates of the four DBAs were also presented.

The results indicated that Clearfil Protect Bond had the lowest permeability after resin–dentin bonding to deep dentin (%P = 11.2 ± 1.3, Table 3). That is, Clearfil Protect Bond reduced dentin permeability by 88.8% (Fig. 2). The resin–dentin interfaces created by G-Bond (%P = 17.2 ± 5.6) and Clearfil S3-Bond (%P = 19.5 ± 3.8) exhibited similar relative adhesive permeabil-

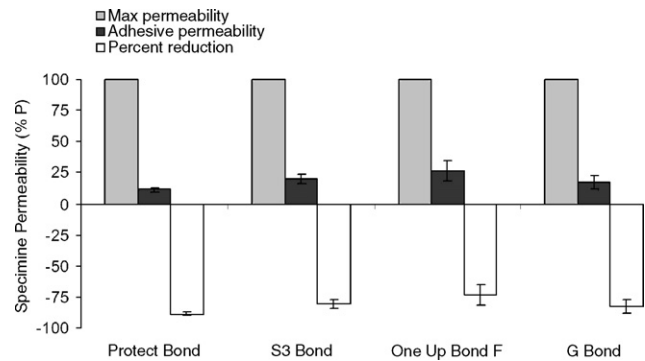


Fig. 2 – Maximum permeability of EDTA-treated dentine (100%), residual permeability of adhesive bonded dentine and the % reduction in permeability (%P) produced by the adhesives.

ities (Table 3) that were significantly higher ($p < 0.05$) than that of Clearfil Protect Bond. One Up Bond Plus had the highest water permeability among the four DBAs examined (%P = 26.4 ± 8.2, Table 3). One Up Bond F Plus reduced dentin permeability by 73.6% after bonding to deep dentine (Fig. 2).

3.2. SEM examination

Replicas of resin-bonded deep dentin surface revealed fluid droplets only after application of simulated pulpal pressure. Table 3 shows the number of droplets per 700 μm² (i.e. 20 μm × 35 μm) of surface area present on the top of each DBA group.

No droplets were observed in SEM-replicas obtained from any of the samples before application of pulpal pressure (Fig. 3A). When pulpal pressure was applied, the OUB-Group (Fig. 3B) and S3-Group (Fig. 3C) were highly permeable and exhibited a large number of droplets. Conversely, the adhesive surfaces of the G-Group (Fig. 3D) and the CPB-Group (Fig. 3E) were almost free from droplets.

Regression analysis between the numbers of fluid droplets observed on the polymerized adhesive surface under a simulated pulpal pressure of 20 cm H₂O and the adhesive per-

Table 3 – Relative adhesive permeability, fluid flow rate and the number of fluid droplets that appeared on the surface of the, resin-bonded dentin

DBAs	%P [†]	Fluid flow rate (μL/min at 20 cm H ₂ O) [§]	Number of fluid droplets after 3 min of pressure application within an area of 700 μm ²
One Up Bond F Plus	26.4 ± 8.2 ^A	0.78 ± 0.20 ^a	39 ± 4.2 ¹
Clearfil S3-Bond	19.5 ± 3.8 ^B	0.58 ± 0.13 ^b	25 ± 5.3 ²
G-Bond	17.2 ± 5.6 ^B	0.52 ± 0.11 ^{b,c}	17 ± 5.6 ³
Clearfil Protect Bond	11.2 ± 1.3 ^C	0.37 ± 0.15 ^c	11 ± 4.3 ⁴

Values are means ± standard deviations. Groups with the different numerical superscripts are statistically significant ($p < 0.05$). Note: Specimens were covered only with adhesive. No flowable composite was used.

[†] Relative adhesive permeability represents the expression of residual permeability of the resin-bonded dentine as a percentage of the maximum permeability of the smear layer-depleted dentine for each crown segment. Thus, each specimen serves as its own control. Values are means ± standard deviations %P. Groups with the same upper case letter superscripts are not statistically significant ($p > 0.05$).

[§] Fluid flow rate represents volume of water that was filtered through the resin-bonded dentine per min at 20 cm H₂O pressure. Values are means ± standard deviations. Groups with the same lower case letter superscripts are not statistically significant ($p > 0.05$).

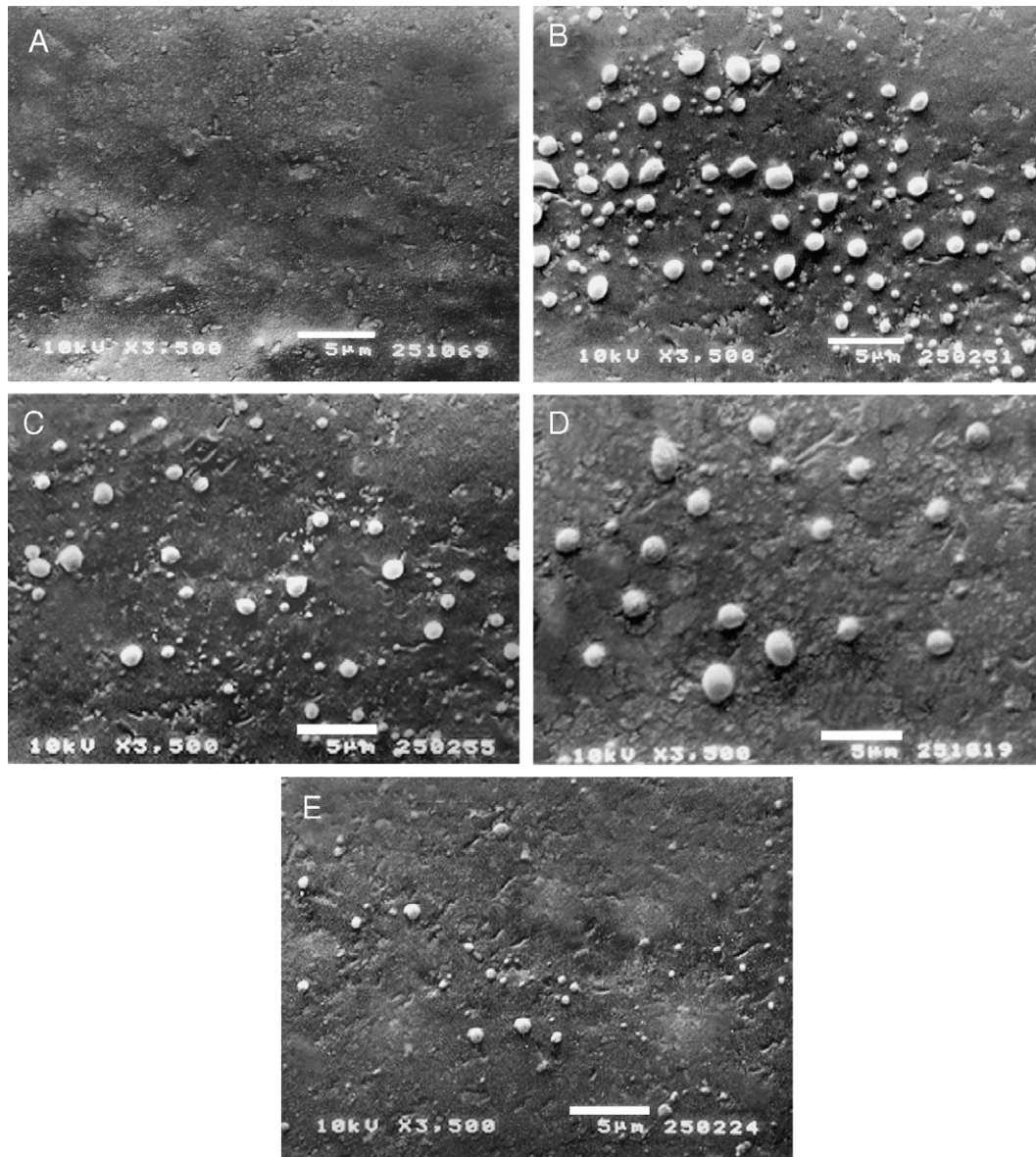


Fig. 3 – Representative SEM micrographs of polyether positive impression replicas of the surfaces of the bonded dentin before and 3 min after application of a pulpal pressure. All micrographs were taken at the same magnification to permit quantitative assessments to be made for statistical analysis. (A) Dentin bonded with One Up Bond F Plus, a simplified self-etch adhesive before application of pulpal pressure. The impression surface appeared flat and predominantly smooth. (B) The same One Up Bond Plus specimen 3 min after application of a simulated intrapulpal pressure. Numerous globular elevations could be identified on the impression surface. These elevations represented water droplets that transudated through the adhesive, and were trapped on its surface by the low viscosity, slow-setting (ca. 3 min) polyvinylsiloxane impression material. (C) Dentin bonded with Clearfil S3 Bond and (D) dentin bonded with G-Bond. These two simplified self-etching adhesives showed fewer globular elevations on the adhesive surface than One Up Bond Plus after 3 min of simulated pulpal pressure. (E) Dentin bonded with Clearfil Protect Bond, a two-step self-etching primer adhesive, showing an almost flat and predominantly smooth surface after 3 min of simulated pulpal pressure.

meability indicated a significant correlation ($R^2 = 0.96$, $r = 0.98$; $p < 0.01$) between these two variables (Fig. 4).

3.3. Microtensile bond strength evaluation

Table 4 shows microtensile bond strengths of the four self-etching DBAs bonded to deep dentin. Two-way ANOVA

revealed highly significant differences in the two factors, “adhesive type” ($p < 0.001$) and “pressure application” ($p < 0.001$). The interaction of these two factors was also significant ($p < 0.001$). In the absence of simulated pulpal pressure, G-Bond had significantly lower bond strength than the other adhesives ($p < 0.05$). However, the tensile bond strength of G-Bond only fell 32% upon the application of 20 cm of water

Table 4 – Microtensile bond strengths of the four self-etch adhesives bonded to deep dentin with and without pulpal pressure application

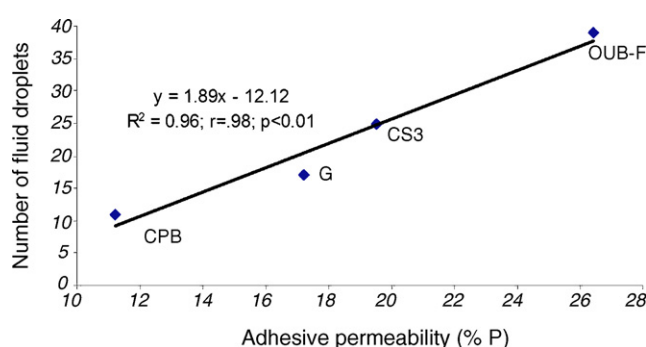
DBAs	No pulpal pressure (MPa) [†]	With pulpal pressure (MPa) [§]	% Change from no pressure values
One Up Bond F Plus [*]	22.8 ± 9.0 ^{A,B,1} [24/40]	6.3 ± 2.5 ^{b,2} [18/40]	−72.4
Clearfil S3-Bond [*]	24.2 ± 9.7 ^{A,B,1} [20/32]	7.1 ± 2.9 ^{b,2} [19/40]	−70.7
G-Bond [*]	20.8 ± 7.5 ^{B,1} [22/36]	14.1 ± 4.4 ^{a,2} [20/39]	−32.2
Clearfil Protect Bond [*]	29.5 ± 12.7 ^{A,1} [28/34]	13.6 ± 4.3 ^{a,2} [21/40]	−53.9

Values are mean ± S.D. in MPa. Beams that failed prematurely were not included in the statistical analysis. The actual number of dentin-composite beams tested for each subgroup is included in parenthesis followed by the total number of beams prepared.

^{*} For each horizontal adhesive row, significant difference ($p < 0.05$) between the “no pulpal pressure” subgroup and the “with pulpal pressure” subgroup is indicated by different numerical superscripts.

[†] For the vertical column “no pulpal pressure”, subgroups with the same upper case letter superscripts are not statistically significant ($p > 0.05$).

[§] For the vertical column “with pulpal pressure”, subgroups with the same lower case letter superscripts are not statistically significant ($p > 0.05$).

**Fig. 4 – Regression analysis between adhesive permeability (%P) and number of droplets after connection to pressure apparatus at 20 cm of water pressure. A significant ($p < 0.01$) positive correlation ($R^2 = 0.96$) was identified between the two variables.**

pressure ($p < 0.05$). Conversely, tensile bond strengths of the other two simplified adhesives One Up Bond F Plus and Clearfil S3-Bond decreased by 71 and 72%, respectively, under simulated pulpal pressure. Clearfil Protect Bond also demonstrated a 54% fall in tensile bond strength following the application of pulpal pressure (Table 4).

4. Discussion

The wetness of dentin surfaces, the presence of pulpal pressure, and the thickness of dentine are extremely important variables during bonding procedures, especially when testing bond strength of adhesive materials in vitro with the intention of simulating in vivo conditions [18,19].

The results of this study indicated that contemporary self-etching DBAs are susceptible to water permeation induced by pulpal pressure after polymerization. Water droplets were immediately detected by SEM replica technique [9,10] on the outer surface of polymerized adhesive film only when pulpal pressure was applied. On the contrary, no water droplets were detected in pulpal pressure-free samples.

The study also showed a significant ($p < 0.01$) relationship between increases in residual permeability of resin-bonded

dentin and the number of water droplets present on the surface of polymerized adhesive film. This observation validates the use of polyvinylsiloxone replicas for measuring the permeability of resin-bonded dentin.

Thus, the first null hypotheses that there is no correlation between the permeability of these DBAs and the quantity of fluid droplets identified from the surfaces of the bonded deep dentin has to be rejected.

Furthermore, the results of this study also showed that application of pulpal pressure after polymerization, statistically reduced bond strength of self-etching DBAs applied to deep dentine. These results require rejection of the second null hypotheses that simulated pulpal pressure has no effect on microtensile bond strength of self-etching DBAs to dentine.

Most adhesive systems contain relatively high concentrations of solvents and hydrophilic monomers, such as 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA), to improve wetting and spreading of adhesives on dentin [20]. Such highly hydrophilic comonomers produce highly Hydrophilic polymers that permit movement of water molecules from dentin across the adhesive layer [21–23].

The application of simulated pulpal pressure obviously increases convective fluid movement and reveals through-and-through water-channels through some, but not all, polymerized resins, that connect underlying dentin with the outer adhesive surface. We speculate that the observed water droplets on the surface polymerized adhesives are probably connected with these water-filled channels in the adhesive [11,12]. These water-filled channels are potential sites of hydrolytic degradation that may adversely affect the longevity of restorations bonded with these adhesives.

Interestingly, the tensile bond strengths of two simplified adhesives (One Up Bond F Plus and Clearfil S3-Bond) decreased by 71–72% when they were subjected to a physiologic [13] pulpal pressure (Table 4). Conversely, although the tensile bond strength of G-Bond dropped significantly on the application of pulpal pressure, the reduction was only 32%, which was the smallest reduction in bond strength produced by application of pulpal pressure in this study. It is interesting that this was the only HEMA-free product tested. It produces a copolymer 4-methacryloxyethyltrimellitic acid (4-MET) and urethane dimethacrylate (UDMA).

Hydrophilic polymers such as 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) are capable of imbibing large amount of water within the adhesive and hybrid layers. Hence, water remains entrapped at resin–dentine interface [6]. The presence of water within adhesive film may degrade mechanical properties of the polymers, such as its ultimate tensile strength [8] and its modulus of elasticity [5] and may be responsible for reduced bond strength reported in this study. Conversely, a recent study has showed that experimental 4-MET-based adhesives result in less water uptake and phase separation when stored in water [24,25]. Apart from differences in chemical composition and the presence of less hydrophilic co-monomers, the success of G-Bond [26] may be due to its unique mode of application, as the manufacturer recommends a strong, continuous air-blast to remove the solvent prior to polymerization. Strong or longer air-blast apparently improves the quality of the adhesive film and reduces its permeability, thereby lowering the influence of water contamination [25,27].

Deep dentin is a highly permeable substrate [18,28] and may supply excessive amounts of water to adhesives just prior to their polymerization. Water may rapidly dilute adhesive hydrophilic monomers and affect the resulting three-dimensional polymer structure. The ultimate tensile strength (UTS) of hydrophilic polymers was much lower than those of hydrophobic polymers following one month of water storage [29]. In that same study, when the same polymers were stored in mineral oil instead of water, there was no change in their UTS over time. A recent study by Ito et al. [5] demonstrated that commercial hydrophilic resins adsorbed between 5 and 12% water, which was associated with a drastic reduction in modulus of elasticity caused by plasticization of the polymers by water. In our study, all adhesives showed higher bond strength when pulpal pressure was absent and no droplets formed on the adhesive surface. In other words, it is evident that pulpal pressure causes a drastic reduction in resin–dentine bond strength.

The intrinsic wetness of dentin and the perfusion of fluid from the pulp chamber should be considered when bonding to deep dentin [28]. The density of water-filled dentin tubules and hence intrinsic water content of dentine increases with dentin depth [30] and these factors may reduce the bond strengths and the longevity of the restoration [31–34]. Several investigations have also demonstrated the sensitivity of various bonding systems to pulpal pressure [35] and dentin depth [36–38].

Recent studies [23,39] demonstrated that evaporative water flux from dentin may induce water movement in adhesive films bonded to dentin. Water movement via crazing of the polymerized adhesive matrix [8] may further generate additional pathways for water penetration and result in increased water uptake. The inclusion of hydrophobic resin components in simplified self-etching DBAs may result in phase separation of the hydrophobic from the hydrophilic and ionic monomers on evaporation of their common solvent [25,40].

Using SEM and confocal microscopy, Sauro et al. [41] demonstrated that dentin adhesives are more susceptible to water uptake and lactic acid challenge than a two-steps self-etching adhesive resulting in deterioration of the adhesives. Cadenaro et al. [42] demonstrated that insufficient polymerization of DBA may be one of the main causes of water droplets formation and water uptake from dentin. Continuous water

uptake from dentin tubules during the polymerization procedures may result in discontinuities in the structure of adhesive layer and the formation of an unstable, porous interface with water migrating from the dentine outward through the adhesive layer curing placement and polymerization of resin composites.

Hence, over time, blisters and water channels of HEMA-based adhesives may increase their dimensions and create greater stress at the interface between the adhesive film and the overlying resin composite. Finally, the existence of micro-channels from dentin through the hybrid and adhesive layers create the conditions for a continuous water flux [12] and uncontrolled absorption and accumulation of proteins and other biomolecules from oral fluids that may further alter the mechanical properties of adhesive film [43].

5. Conclusion

Within the limitations of this *in vitro* study, it was concluded that the hybrid layer and polymerized resin adhesive films of some self-etching *all-in-one* adhesives applied in deep dentin are extremely permeable after polymerization when simulated pulpal pressure is applied. This results in reduced bond strength, especially when hydrophilic HEMA-based self-etching adhesives are used. Furthermore, it may promote continuous bidirectional water movement across adhesive dentine interfaces over time that induces degradation of resin–dentine bonds [44].

Thus, these materials and in particular *all-in-one* DBAs, must be avoided in deep dentin in favor of total-etch, three-step adhesives.

Acknowledgements

We would like to thank Dr. Paolo Ferrieri and Prof. Romano Mongiorgi for their support and assistance for the scanning electron microscope and permeability apparatus. Materials were generously supplied by Kuraray, Tokuyama and GC Corp. This study was supported by 'Progetto Pluriennale' UNIBO and RFO 2004 UNIBO from the University of Bologna, Italy, by CNPq# 474226/03-4, Brazil and by grant R01 DE14911 (PI D. Pashley) from the National Institute of Dental and Craniofacial Research.

REFERENCES

- [1] Perdigao J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin N Am* 2002;46:277–301.
- [2] Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, et al. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentine: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215–35.
- [3] Armstrong SR, Vargas MA, Fang Q, Laffoon JE. Microtensile bond strength of a total-etch 3-step, total-etch 2-step, self-etch 2-step, and a self-etch 1-step dentine bonding system through 15-month water storage. *J Adhes Dent* 2003;5:47–56.
- [4] De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the

- durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84:118–32.
- [5] Ito S, Hashimoto M, Wadgaonkar B, Svizero N, Carvalho RM, Yiu C, et al. Effects of resin hydrophilicity on water sorption and changes in modulus of elasticity. *Biomaterials* 2005;26:6449–59.
 - [6] Tay FR, Pashley DH, Garcia-Godoy F, Yiu CK. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part II. Silver tracer penetration evidence. *Am J Dent* 2004;17:315–22.
 - [7] Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu CKY, et al. SEM and TEM analysis on water degradation of human dentine collagen. *J Biomed Mater Res* 2003;66:287–98.
 - [8] Yiu CKY, King NM, Carrilho MRO, Sauro S, Rueggeberg Prati C, Carvalho RM, et al. Effect of resin hydrophilicity and temperature on water sorption of dental adhesive resins. *Biomaterials* 2005;26:6862–72.
 - [9] Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid layer after different dentine treatments. *Dent Mater* 2004;20:796–803.
 - [10] Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, et al. In vivo and in vitro permeability of one-step self etch adhesives. *J Dent Res* 2004;83:459–64.
 - [11] Frankenberger R, Tay FR. Self-etch vs etch-and-rinse adhesives: effect of thermo-mechanical fatigue loading on marginal quality of bonded resin composite restorations. *Dent Mater* 2005;21:397–412.
 - [12] Prati C, Chersoni S, Acquaviva GL, Breschi L, Suppa P, Tay FR, et al. Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations. *Clin Oral Investig* 2005;9:1–7.
 - [13] Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley DH. Dentine fluid dynamics in human teeth, in vivo. *J Endodont* 1995;21:191–4.
 - [14] Pashley DH, Depew DD. Effects of smear layer, copalite and oxalate on microleakage. *Oper Dent* 1986;11:95–102.
 - [15] Pashley DH, Adringa HJ, Derkson GD, Derkson ME, Kalathor SR. Regional variability in the permeability of human dentin. *Arch Oral Biol* 1987;32:519–23.
 - [16] Chng HS, Pitt Ford TR, McDonald F. Effects of prilocaine local anaesthetic solutions on pulpal blood flow in maxillary canines. *Endod Dent Traumatol* 1996;12:89–95.
 - [17] Premdas CE, Pitt Ford TR. Effect of palatal injections on pulpal blood flow in premolars. *Endod Dent Traumatol* 1995;11:274–8.
 - [18] Prati C, Pashley DH. Dentine wetness, permeability and thickness and bond strength of adhesive systems. *Am J Dent* 1992;5:33–8.
 - [19] Pioch T, Staehle HJ, Schneider H, Duschner H, Dorfer CE. Effect of intrapulpal pressure simulation in vitro on shear bond strengths and hybrid layer formation. *Am J Dent* 2001;14:319–23.
 - [20] Tay FR, Pashley DH. Have dentine adhesives become too hydrophilic? *J Can Dent Assoc* 2003;69:724–31.
 - [21] Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Itthagarun A. Single-step adhesives are permeable membranes. *J Dent* 2002;30:371–82.
 - [22] Itthagarun A, Tay FR, Pashley DH, Wefel JS, Garcia-Godoy F, Wei SHY. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part III. Evidence from fluid conductance and artificial caries inhibition. *Am J Dent* 2004;17:394–400.
 - [23] Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CKY. Buonocore memorial lecture. Water treeing in simplified dentine adhesives—Deja vu? *Oper Dent* 2005;30:561–79.
 - [24] Unemori M, Matsuya Y, Matsuya S, Akashi A, Akamine A. Water absorption of poly(methyl methacrylate) containing 4-methacryloxyethyl trimellitic anhydride. *Biomaterials* 2003;24:1381–7.
 - [25] Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, et al. Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 2005;84:183–8.
 - [26] Spreafico D, Semeraro S, Mezzanzanica D, Re D, Gagliani M, Tanaka T, et al. The effect of the air-blowing step on the technique sensitivity of four different adhesive systems. *J Dent* 2006;34:237–44.
 - [27] Hashimoto M, Tay FR, Ito S, Sano H, Kaga M, Pashley DH. Permeability of adhesive resin films. *J Biomed Mater Res* 2005;74:99–705.
 - [28] Itthagarun A, Tay FR. Self-contamination of deep dentin by dentinal fluid. *Am J Dent* 2000;13:195–200.
 - [29] Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, et al. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomaterials* 2004;25:5789–96.
 - [30] Pashley DH. Clinical correlations of dentine structure and function. *J Prosthet Dent* 1991;60:777–81.
 - [31] Prati C, Pashley DH, Montanari G. Hydrostatic intrapulpal pressure and bond strength of bonding systems. *Dent Mater* 1991;7:57–8.
 - [32] Pereira PN, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. *Dent Mater* 1999;15:46–53.
 - [33] Perdigão J. Dentin bonding as a function of dentin structure. *Dent Clin N Am* 2002;6:277–301.
 - [34] Toledano M, Osorio R, Ceballos L, Fuentes MV, Fernandes CA, Tay FR, et al. Microtensile bond strength of several adhesive systems to different dentin depths. *Am J Dent* 2003;16:292–8.
 - [35] Özok AR, Wu M-K, De Gee AJ, Wesselink PR. Effect of dentin perfusion on the sealing ability and microtensile bond strengths of a total-etch versus an all-in-one adhesive. *Dent Mater* 2004;20:479–86.
 - [36] Tagami J, Tao L, Pashley DH. Correlation among dentin depth, permeability and bond strength of adhesive resins. *Dent Mater* 1990;6:45–50.
 - [37] Tao L, Tagami J, Pashley DH. Pulpal pressure and bond strengths of superbond and gluma. *Am J Dent* 1991;4:73–6.
 - [38] Ferrari M, Tay FR. Technique sensitivity in bonding to vital acid-etched dentin. *Oper Dent* 2003;28:3–8.
 - [39] Hashimoto M, Ito S, Tay FR, Svizero NR, Sano H, Kaga M, et al. Fluid movement across the resin–dentin interface during and after bonding. *J Dent Res* 2004;83:843–8.
 - [40] Spencer P, Wang Y. Adhesive phase separation at the dentin interface under wet bonding conditions. *J Biomed Mater Res* 2002;62:447–56.
 - [41] Sauro S, Watson TF, Tay FR, Chersoni S, Breschi L, Bernardi F, et al. Water uptake of bonding systems applied on root dentine surfaces: a SEM and confocal microscopic study. *Dent Mater* 2006;22:271–80.
 - [42] Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, et al. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005;113:525–30.
 - [43] Lord MS, Stenzel MH, Simmons A, Milthorpe BK. The effect of charged groups on protein interactions with poly(HEMA) hydrogels. *Biomaterials* 2006;27:567–75.
 - [44] Sano H, Yoshikawa T, Pereira PN, Kanemura N, Morigami M, Tagami J, et al. Long-term durability of dentin bonds made with a self-etching primer, in vivo. *J Dent Res* 1999;78:906–11.

Marginal seal evaluation of different resin sealants used in pits and fissures. An in vitro study

M. MONTANARI, G. PITZOLU, C. FELLINE, G. PIANA

ABSTRACT. *Aim* Oral health is important for everyone, but specially for children and people requiring special care owing to impaired manual ability. Primary prevention, with correct oral hygiene, proper diet, use of fluoride and pit and fissure sealants, can reduce caries risk thereby improving patients' quality of life. The first aim of this paper was to assess the marginal microleakage of different pit and fissure sealants after immersion in a cariogenic solution. The second aim was to evaluate the ability of the materials to penetrate into the bottom of the fissure. **Methods** 32 posterior teeth were divided into four groups based on the type of sealant tested: Concise, Clinpro, Fissurit, Fissurit F. Samples were immersed and stored in a lactic acid solution (pH 4.4, 0.1 M) at 37° C for different periods: 1 day; 3 days; 7 days; 10 days. Then each sample was stored in erythrosine solution for 24 hours at 37 °C. Each sample was sectioned in a mesio-distal direction and evaluated at the stereomicroscope and subsequently at SEM. **Results** SEM analysis showed that Clinpro and Concise obtained a good penetration inside the fissure and a good adaptation to the enamel wall, while Fissurit and Fissurit F showed gaps at the sealant-enamel interface and voids. **Conclusion** Sealant application is an important means for caries prevention but, for a lasting effect, it must be associated with good oral hygiene and regular dental check-ups.

KEYWORDS: Pit; Fissures; Dental sealants; Cariogenic solution; Microleakage.

Introduction

Over the last three decades, caries prevalence has declined worldwide [Kidd et al., 1993]. However, the decline has not occurred uniformly on all dental surfaces. Decayed pits and fissures represent the majority of carious lesions, 93.4% and 79.8% in 12-year-old boys and girls, respectively [Al-Khateeb et al., 1991; Akpata et al., 1992]. The high tendency may be attributed to the complex morphology of pits and fissures which are considered to be ideal sites for the retention of bacteria and food remnants, making mechanical means of debris removal inaccessible [Feldens et al., 1994]. Other factors responsible for the high incidence of occlusal caries include the lack of salivary access to the fissures as a result of surface

tension, effectively preventing remineralisation and reducing the effectiveness of fluoride [Salama and Al-Hammad, 2002]. Preventive techniques such as systemic and topical fluorides are thought to protect smooth rather than occlusal surfaces. The prevalence of caries on pit and fissure surfaces emphasizes the importance of sealants in the prevention of caries today.

The effectiveness of sealants hinges on their ability to isolate pits and fissures from the combination of bacteria, their nutrients and acidic metabolic products [Bevilacqua et al., 2007]. Sealants are considered to be the most effective caries preventive measure that may be offered to a patient, mainly in those with high caries risk such as children with Molar- Incisor Hypomineralisation (MIH) [Kotsanos et al., 2005; Welbury et al., 2004; Weerheijm, 2003].

Some studies suggested that the benefit provided by protecting pits and fissures is based on good retention and integrity of the sealant [Kilpatrick et al., 1996; Simonsen, 1996]. However, since the retention of

Department of Oral Sciences, Alma Mater Studiorum, University of Bologna,
Bologna (Italy)

E-mail: Gpiana@alma.unibo.it

sealants is not permanent, this physical effect could be enhanced if the material simultaneously releases fluoride [Westerman et al., 2000]. The success of the sealing procedure depends on the morphology of pits and fissures and on the adequate preparation of the enamel before sealant application. Pre-treatment of the enamel surfaces is mandatory to obtain access to the deepest areas of pits and fissures, remove stains and organic debris and increase surfaces roughness [Geiger et al., 2000]. Failure to pre-treat may lead to an increase in microleakage [Ansari et al., 2004]. Since its introduction, acid etching has become a crucial and indispensable step in sealant applications. Etching produces microscopic porosities in the enamel surface into which the unpolymerised sealant flows and hardens in tag-like projections that attach the material to the tooth structure [Gungor et al., 2003].

Since the surface should be clean and dry when the material is applied, placement of a rubber dam is recommended to eliminate salivary contamination. This means that sealant should be applied after cleaning and polishing the teeth [Mazzoleni et al., 2007]. To achieve maximum benefit, sealants should bond appropriately to the enamel surface [Sheila et al., 1998]. Adequate retention of a sealant will be achieved if the tooth has a wide surface area and irregular pits and fissures [Ansari et al., 2004]. The marginal sealing ability of these materials is extremely important for successful treatment. Lack of sealing will lead to marginal leakage (i.e., passage of bacteria, fluids, molecules and ions through the tooth-material interface), which can prompt caries lesion progression underneath the restoration [Pardi et al., 2006; Atash and Vanden Abbeele, 2005].

The first aim of the present study was to assess the marginal microleakage of different resinous pit and fissure sealants after immersion in a cariogenic solution. The second aim was to evaluate the ability of the materials to penetrate into the bottom of the fissure without forming voids.

Materials and methods

Thirty-two freshly extracted posterior caries- and filling-free human teeth were selected and employed for this study.

Teeth were stored at 4°C in water for no more than two weeks.

Occlusal surfaces were cleaned with a prophyl brush mounted on a slow-speed handpiece with a water-based slurry of pumice for 10 s and then rinsed for 30 s and treated with ultrasound for 15 min to remove debris. Then each tooth was dried with a gentle air

flow and etched with 37% orthophosphoric acid gel (Scotchbond Etchant, 3M-ESPE, St. Paul, Minnesota, USA) for 60 s. Samples were rinsed with water for 30 s and dried for 15 s to dehydrate the enamel and allow sealant penetration inside pits and fissures.

The teeth were divided into four groups based on the type of sealant used:

- Group A (n. 8) Concise (3M-ESPE, St. Paul, USA);
- Group B (n. 8) Clinpro (3M-ESPE, St. Paul, USA);
- Group C (n. 8) Fissurit (Voco GmbH, Cuxhaven, Germany);
- Group D (n. 8) Fissurit F (Voco GmbH, Cuxhaven, Germany).

Subsequently, sealants were applied inside pits and fissures following the manufacturers' instructions. To reduce the formation of air bubbles, the resin was applied using a small dental probe (diameter 0.5 mm). Then each sealant was polymerized for 60 s with a halogen light curing unit (XL-2005, 3M-ESPE, St Paul, MN USA) with output power intensity of 600 mW/cm². Hardening and retention of all sealants were confirmed with an explorer.

Teeth apical foramen were sealed with sticky wax to prevent dye penetration. The external root surface was coated with a double layer of nail varnish to leave exposed only the occlusal surface where the sealant was applied.

Each sample was then immersed and stored in a cariogenic solution [Nucci et al., 2004] of lactic acid pH 4.4 0.1 M at 37° C for different periods to form four sub groups:

- Subgroup 1: 1 day of storage (2 samples per group);
- Subgroup 2: 3 days of storage (2 samples per group);
- Subgroup 3: 7 days of storage (2 samples per group);
- Subgroup 4: 10 days of storage (2 samples per group).

The solution was changed every 24 hours. After acid treatment, samples were rinsed under running water for 2 min and then immersed and stored in erythrosine solution for 24 hours at 37° C. They were then rinsed in tap water for 20 min and treated with ultrasound for 15 min to remove dye residues. Roots were sectioned at the cementum-enamel junction with a slow-speed water-cooled diamond saw (Remet, Ceretolo di Casalecchio, Bologna, Italy). Subsequently, each sample was sectioned into two halves in the mesial and distal pits.

Then each sample was investigated by stereomicroscope. The tooth-sealant interface was evaluated and a microleakage score from 0 to 3 was given to each section based on dye penetration [Ovrebo

and Raadal, 1990]:

- score 0 was given to no dye penetration;
- score 1 was given to dye penetration limited to the outer half of the sealant;
- score 2 was given to dye penetration limited to the inner half of the sealant;
- score 3 was given to dye penetration into the bottom of the fissure.

This evaluation scale is the most widely used in leading studies on sealant microleakage [Zervou et al., 2000; Pardi et al., 2006; Bevilacqua et al., 2007]. Mean dye penetration was calculated for each fissure and data were analysed by Anova system and Student's t-test. Subsequently samples were prepared for SEM analysis (Jeol JSM 5200). They were fixed in 2.5% glutaraldehyde in 0.1 M cacodylate buffer solution at pH 7.2 for 48 h, then each sample was rinsed several times with 0.1 M sodium cacodylate buffer, dehydrated in increasing concentrations of ethanol (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%) for 30 min each. Then samples were gold-coated and analyzed by SEM.

Results

Microleakage results are shown in figures 1-4. Stereomicroscope images of dye penetration are summarised in figures 5-8. Statistical analysis revealed significant differences between the four sealants ($p < 0.05$). ANOVA test showed that Group A obtained the best dye penetration compared with the other groups, but Student's t-test failed to disclose statistical differences from Concise at different storage times ($p > 0.05$). Group C did not show statistical differences from Group D in the four subgroups ($p > 0.05$). Both Group A and Group B showed statistical differences from Groups C and D ($p < 0.05$). In the same group sealants showed an increase in dye penetration over time (Fig. 1-4). Groups A, B and C presented statistical differences ($p < 0.05$) from 1 to 10 days of storage in cariogenic solution, whereas Fissurit did not ($p > 0.05$). SEM analysis showed that Clinpro and Concise obtained a good penetration inside the fissure and a good adaptation to the enamel wall (Fig. 5b, 5f, 6b), whereas Fissurit and Fissurit F showed gaps at the sealant-enamel interface (Fig. 8c).

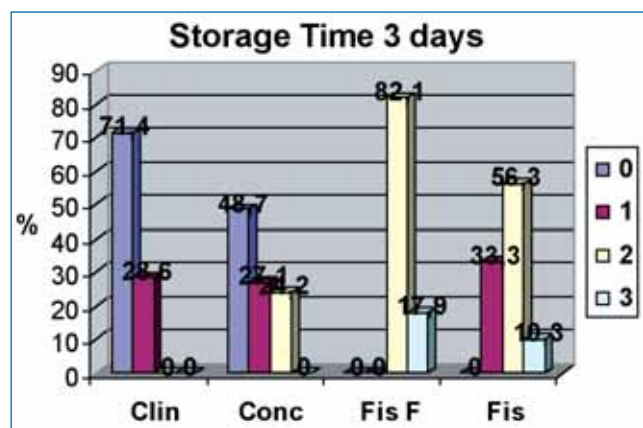
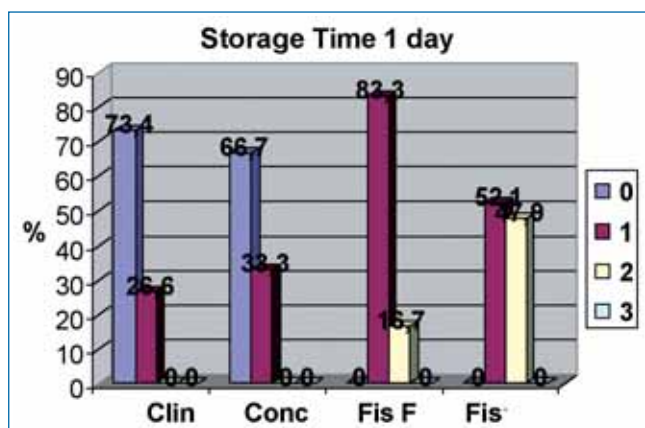


FIG. 1, 2 - Score of dye penetration at 1 and 3 days of storage in cariogenic solution.

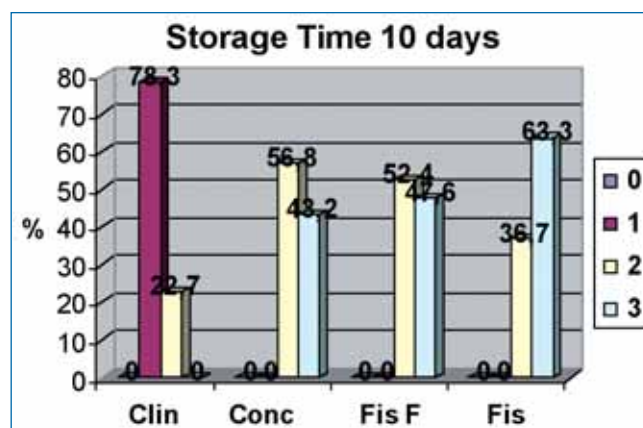
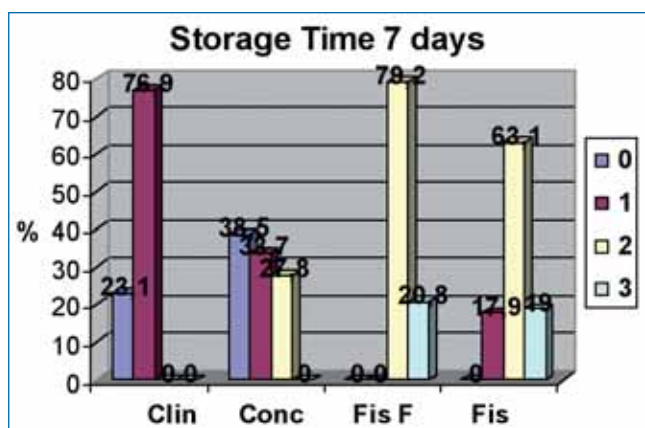


FIG. 3, 4 - Score of dye penetration at 7 and 10 days of storage in cariogenic solution.

Discussion

Pit and fissure sealants have been considered an outstanding adjunct to oral health care preventive

strategies decreasing occlusal caries onset and/or progression. The properties of an ideal sealing material include biocompatibility, retention and

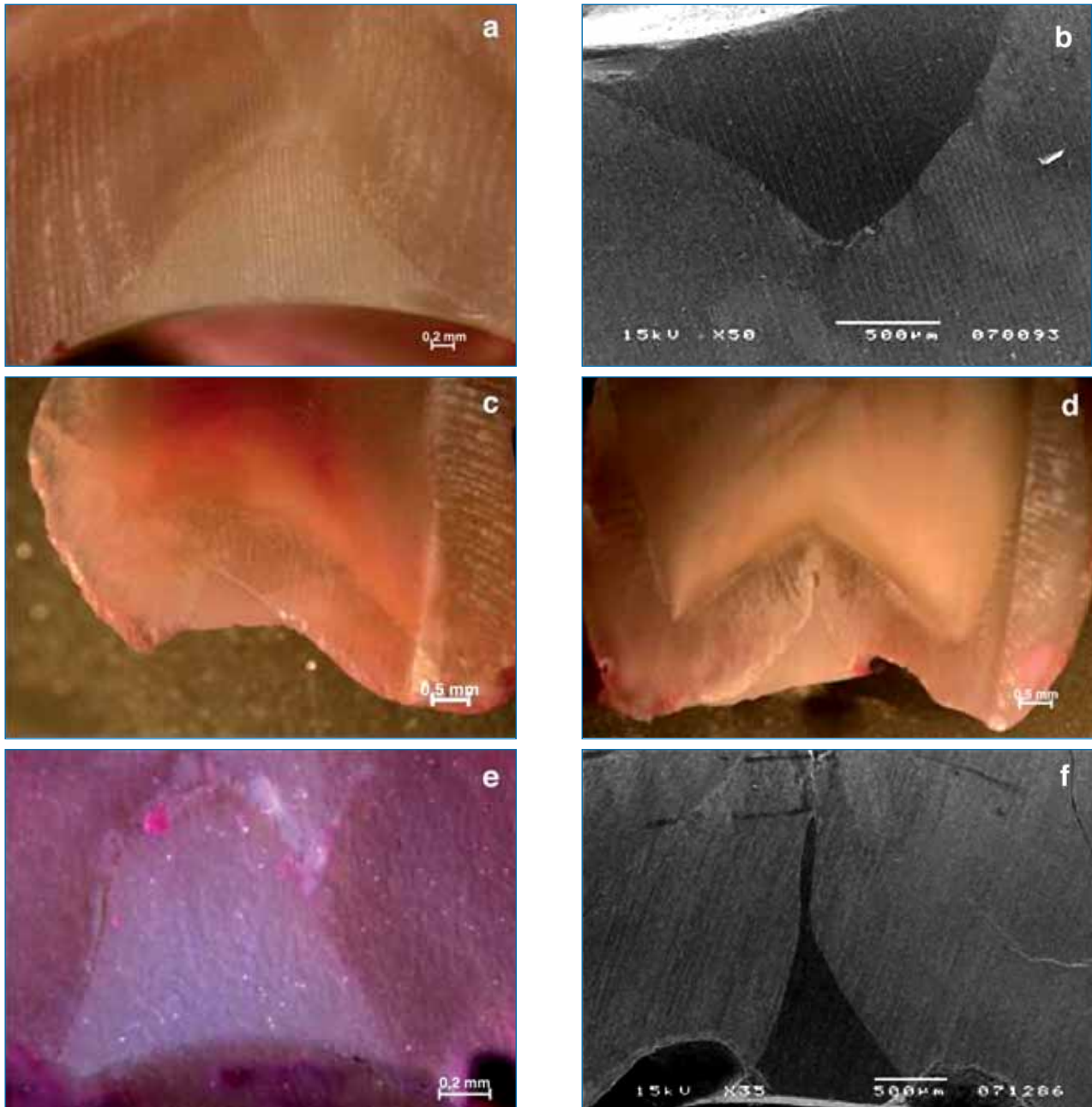


FIG. 5 - Most representative Clinpro samples.

A: stereomicroscopic image of Clinpro stored in lactic acid for 1 day (25.6 X). The sample shows a good marginal seal.

B: SEM micrograph of Clinpro stored in lactic acid for 1 day. It shows a good marginal seal.

C: stereomicroscopic image of Clinpro stored in lactic acid for 3 days (20.48 X). No dye penetration is shown.

D: stereomicroscopic image of Clinpro stored in lactic acid for 7 days (20.48 X).

E: SEM micrograph of Clinpro stored in lactic acid for 7 days. The sealant penetrates deep into the bottom of the fissure in spite of the unfavourable anatomy.

F: stereomicroscopic image of Clinpro stored in lactic acid for 10 days (64 X). Dye penetration can be seen on the bottom of the fissure.

resistance to abrasion and wear. Sealant penetration into etched enamel is important because microleakage at the tooth-material interface can lead to failure [Pere-Lajarin et al., 2003]. Microleakage can be defined as the passage of bacteria, fluids, molecules or ions between a prepared tooth surface and the restorative material applied [Srinivasan et al., 2005]. The evaluation of marginal leakage gives a good idea of a sealant's ability to prevent bacterial invasion and consequently reduce the risk of secondary caries development [Lupi-Pegurier et al., 2004]. Microleakage is therefore a key parameter to explore the effectiveness of dental sealants [Hicks, 1984]. Even if the clinical meaning of in vitro microleakage tests must today be interpreted with caution, despite

their known limits these studies offer an invaluable tool for the evaluation of new materials or technologies. Although tracer infiltration is not an absolute value, it can demonstrate the lack of adaptation between material and enamel walls and the absence of a perfect seal [Roulet, 1994]. Resin sealants of different composition are now available on the market including materials that can release fluoride. Fluoride release by sealants is responsible for the anticariogenic effect around the enamel and on the adjacent tooth [Lobo et al., 2005].

The present study evaluated the in vitro microleakage of four different sealants to identify the material with the best performance that can be used in routine clinical practice. Different storage times in

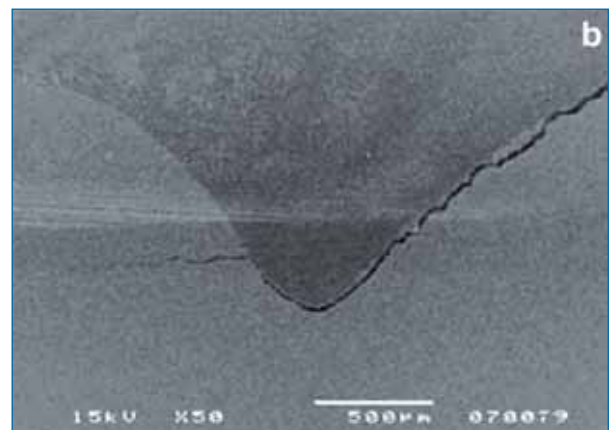


FIG. 6 - Most representative Concise samples.

- A: stereomicroscopic image of Concise stored in lactic acid for 7 days (20.48 X). No dye penetration is displayed.
B: SEM micrograph of Concise stored in lactic acid for 7 days. A fracture between sealants and enamel is visible on the sample probably because of the dehydration.



FIG. 7 - Most representative Fissurit F samples.

- A: stereomicroscopic image of Fissurit F stored in lactic acid for 3 days (20.48 X). Several voids inside the thickness of the sealant can be seen as well as dye penetration on the bottom of the fissure.
B: stereomicroscopic image of Fissurit F stored in lactic acid for 10 days (20.48 X). Dye penetration can be seen on the bottom of the fissure.

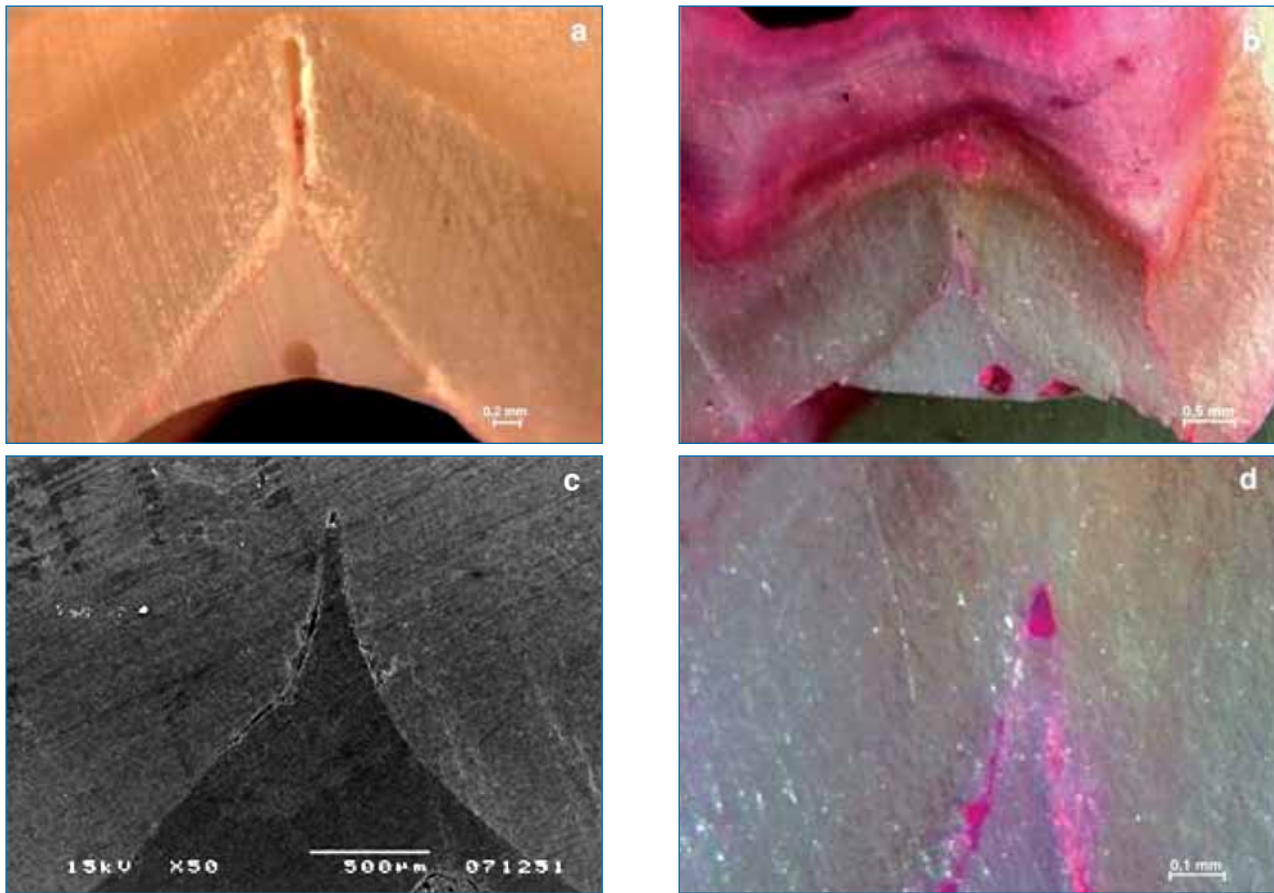


FIG. 8 - Most representative Fissurit samples.

- A: stereomicroscopic image of Fissurit stored in lactic acid for 1 day (25.6 X). Dye penetration can be detected on the inner half of the sealant. The latter did not penetrate deep in the bottom of the fissure because of the unfavourable anatomy. Voids are visible inside the thickness of the resin sealant.*
- B: stereomicroscopic image of Fissurit stored in lactic acid for 3 days (20.48 X). Dye penetration can be seen on the bottom of the fissure as well as voids inside the thickness of the resin sealant.*
- C: SEM micrograph of Fissurit stored in lactic acid for 3 days. Dye penetration is displayed on the bottom of the fissure.*
- D: stereomicroscopic image of Fissurit stored in lactic acid for 3 days (128 X). Dye penetration on the bottom of the fissure.*

cariogenic solution (1, 3, 7 and 10 days) were chosen to simulate the different conditions of the oral environment. Clinpro showed the lowest microleakage at different storage conditions compared with the other resin sealants tested (Fig. 5a). Clinpro penetrated deep into the bottom of the fissures without forming voids (Fig. 5c, 5e). Concise demonstrated a similar behaviour to Clinpro (Fig. 6a) but microleakage results showed greater dye penetration (Figs. 1-4). The differences between these two sealants were not statistically significant ($p > 0.05$). Fissurit demonstrated greater infiltration than the other sealants, both in the bottom of the fissures and along the margins (Figs. 7a). In addition this sealant presented several voids inside its thickness (Figs. 7a, 7b). Fissurit F presented a similar behaviour to Fissurit (Figs. 8a, 8b, 8c). Time

negatively influenced the marginal microleakage of all sealants tested with an increase in eritrosine penetration in the samples at 7 and 10 days (Fig. 3, 4).

The presence and the release of fluoride may be responsible for the best results of Clinpro. Fissurit F also contains fluoride but its release may not be able to prevent microleakage. Concise showed good results probably because its very low viscosity, that is responsible for a deep penetration inside fissures and inside etched enamel. In addition, the presence of different resinous components (Bis-GMA, TEGDMA, BHV, diuretan-dimethacrylate) in Fissurit and Fissurit F may be responsible for the poor resin penetration inside fissures. Voids within the thickness of sealants may play an important role in favouring dye penetration and hence bacterial microleakage.

Conclusion

A cariogenic solution was used to simulate the acid environment of the oral cavity, which determined an increase in microleakage. All the sealants used in this study presented higher values of microleakage after 10 days of storage in the solution, demonstrating that in addition to sealant type and fissure anatomy, the acid environment had a decisive influence on the sealant's durability. Sealant application is an important means of preventing caries but, for a lasting effect, it must be associated with good oral hygiene and regular dental check-ups.

References

- Akpata ES, Al-Shammery AR, Saeed HI. Dental caries, sugar consumption and restorative dental care in 12–13 year old children in Riyadh, Saudi Arabia. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 1992; 20 : 342-346.
- Al-Khateeb TL, Al-Marsafi AI, O'Mullane DM. Caries prevalence and treatment need amongst children in an Arabian community. *Community Dentistry and Oral Epidemiology* 1991; 19 : 277–280.
- Albani F, Ballesio I, Campanella V, Marzo G. Pit and fissure sealants: results at five and ten years. *Eur J Paediatr Dent* 2005; 6: 61-5
- Ansari G, Oloomi K, Eslami B. Microleakage assessment of pit and fissure sealant with and without the use of pumice prophylaxis. *Int J Pediatr Dent* 2004; 14: 272-278.
- Atash R, Vanden Abbeele A. Sealing ability and bond strength of four contemporary adhesives to enamel and to dentine. *Eur J Paediatr Dent* 2005; 6: 185-90.
- Bevilacqua L, Cadenaro M, Sossi A, Biasotto M, Di Lenarda R. Influence of air abrasion and etching on enamel and adaptation of a dental sealant. *Eur J Paediatr Dent* 2007; 8: 25-30.
- Feldens EG, Feldens CA, De Araujo FB, Souza ML. Invasive technique of pit and fissure sealant in primary molars: a SEM study. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry* 1994; 18: 187–190.
- Geiger SB, Gulayev S, Weiss EI. Improving fissure sealant quality: mechanical preparation and filling level. *J Dent* 2000; 28: 407-12.
- Gungor HC, Turgut MD, Attar N, Altay N. Microleakage evaluation of a flowable polyacid-modified resin composite used as a fissure sealant on air-abraded permanent teeth. *Oper Dent* 2003; 28:267-273.
- Hicks MJ. Caries-like lesion formation around occlusal alloy and preventive resin restorations. *Pediatr Dent* 1984; 6: 17-22.
- Kaste LM, Selwitz RH, Oldakowski RJ, Brunelle JA, Winn DM, Brown LJ. Coronal caries in the primary and permanent dentition of children and adolescents 1-17 years of age: United States, 1988-1991. *J Dent Res* 1996; 75: 631-641.
- Kidd EAM, Ricketts DNJ, Pitts NB. Occlusal caries diagnosis: a changing challenge for clinicians and epidemiologists. *J Dent* 1993; 21: 323-331.
- Kilpatrick NM, Murray JJ, McCabe JF. A clinical comparison of a light cured glass ionomer sealant restoration with a composite sealant restoration. *J Dent* 1996; 24: 399-405.
- Kotsanos N, Kaklamanos EG, Arapostathis K. Treatment management of first permanent molars in children with Molar-Incisor Hypomineralisation. *Eur J Paediatr Dent* 2005; 6: 179-84.
- Lobo MM, Pecharki GD, Tengan C, Dias da Silva D, Periera da Silva Tagliaferro, Napimoga MH. Fluoride-releasing capacity and cariostatic effect provided by sealant. *J Oral Science* 2005; 47: 35-41.
- Lupi-Pegurier L, Muller-Bolla M, Bertrand MF, Fradet T, Bolla M. Microleakage of a pit-and-fissure sealant: effect of air-abrasion compared with classical enamel preparations. *J Adhes Dent* 2004; 6: 43-8.
- Mazzoleni S, De Francesco M, Perazzolo D, Favero L, Bressan E, Ferro R, Stellini E. Comparative evaluation of different techniques of surface preparation for occlusal sealing. *Eur J Paediatr Dent* 2007; 8: 119-23.
- Nucci C, Marchionni S, Piana G, Mazzoni A, Prati C. Morphological evaluation of enamel surface after application of two 'home' whitening products. *Oral Health Prev Dent* 2004; 2: 221-9.
- Ovrebö RC and Raadal M. Microleakage in fissures sealed with resin or glass ionomer cement. *Scand J Dent Res* 1990; 98: 66-69.
- Pardi V, Sinhoreti MA, Pereira AC, Ambrosano GM, Meneghim Mde C. In vitro evaluation of microleakage of different materials used as pit-and-fissure sealants. *Braz Dent J* 2006; 17: 49-52.
- Perez-Lajarin L, Cortes-Lillo O, Garcia-Ballesta C, Cozar-Hidalgo A. Marginal microleakage of two fissure sealants: a comparative study. *J Dent Child* 2003; 70:24-8.
- Roulet JF. Marginal integrity: clinical significance. *J Dent* 1994; 22: 9-12.
- Salama FS, Al-Hammad NS. Marginal seal of sealant and compomer materials with and without enameloplasty. *Int J Paediatr Dent* 2002; 12: 39-46.
- Sheila H, Jarvis T, Cheng Y. Effect of topical fluoride treatment on tensile bond strength of pit and fissure sealants. *Gener Dent* 1998; 46: 278-280.
- Simonsen RJ. Glass-ionomer as fissure sealant- a critical review. *J Public Health Dent* 1996; 56: 146-149.
- Srinivasan V, Deery C, Nugent Z. In-vitro microleakage of repaired fissure sealants: a randomized, controlled trial. *Int J Paediatr Dent* 2005; 15: 51-60.
- Weerheijm KL. Molar incisor hypomineralisation (MIH). *Eur J Paediatr Dent* 2003 Sep;4(3):114-20.
- Welbury R, Raadal M, Lygidakis NA EAPD guidelines for the use of pit and fissure sealants *Eur J Paediatr Dent* 2004; 5: 179-84.
- Westerman G, Hicks J, Flaitz C. Argon laser curing of fluoride-releasing pit and fissure sealant: in vitro caries development 2000. *ASDC J Dent Child* 2000; 67: 385-390.
- Zervou C, Kugel G, Leone C, Zavras A, Doherty EH, White GE. Enameloplasty effects on microleakage of pit and fissure sealants under load: an in vitro study. *J Clin Pediatr Dent* 2000; 24: 279-85.

Marco Montanari¹
Salvatore Sauro^{1,2}
Gabriela Piana¹
Carlo Prati¹

Università degli Studi di Bologna
"Alma Mater Studiorum"
¹Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
Direttore: Prof. Carlo Prati
²Guy's, King's and St. Thomas'
Dental Institute
King's College London, London, UK
Department of Biomaterials and Dental
Materials

Corrispondenza:
Dott. Marco Montanari
Dipartimento di Scienze
Odontostomatologiche
"Alma Mater Studiorum"
Università degli Studi di Bologna
Via San Vitale, 59
40125 Bologna
E-mail: montmarco@virgilio.it

Può la pressione intrapulpale ridurre l'adesione alla dentina dei sistemi self-etch?

Can pulpar pressure reduce bond strength of self-etch systems to dentine?

RIASSUNTO

Obiettivi: valutare l'adesione di un sistema adesivo self-etch semplificato HEMA-free in presenza ed in assenza di pressione intrapulpale, e la morfologia dell'interfaccia dentina-restauro al microscopio elettronico a scansione.

Materiali e metodi: 16 denti sono collegati al sistema di simulazione della pressione pulpale e suddivisi in 2 gruppi: Gruppo A: l'adesivo G-BOND è stato applicato e polimerizzato per 20 sec. Il build-up è stato eseguito in composito (Gradia Direct LoFlo, GC Corp., Tokyo, Japan) in assenza di pressione pulpale. Gruppo B: l'adesivo G-BOND è stato applicato e polimerizzato in presenza di pressione pulpale pari a 20 cm H₂O. Sono stati ottenuti stick con superficie di adesione pari a 1.0 mm² e sottoposti al test di trazione microtensile fino al fallimento. Due campioni per ogni gruppo sono stati sezionati longitudinalmente ed analizzati al SEM.

Risultati: non sono state riscontrate differenze statisticamente significative fra i gruppi con e senza pressione intrapulpale, mentre sono state osservate fra dentina superficiale e dentina profonda. All'analisi al SEM in entrambi i gruppi è stato evidenziato un numero limitato di vuoti all'interno dello spessore di adesivo. Tuttavia questi erano più numerosi nei campioni non sottoposti a pressione intrapulpale.

Conclusioni: lo studio ha dimostrato che la forza di adesione del G-BOND in

presenza di pressione pulpale è diminuita in maniera limitata. Il sistema adesivo G-BOND non è alterato dalla pressione intrapulpale, in quanto risulta solo parzialmente influenzato dai fenomeni di degradazione idrolitica con formazione di bolle e vuoti.

Parole chiave:

Permeabilità, assorbimento di acqua, polimeri idrofilici, sistemi adesivi smalto-dentinali, test microtensile, SEM.

ABSTRACT

Objective: the first objective was to evaluate the microtensile bond strength of a self-etch one step with and without pulpal pressure. The second objective was to evaluate the presence of voids inside the adhesive resin layer.

Material and methods: two groups of resin-bonded specimens were created for microtensile bond strength evaluation: Group A: G-BOND applied without pulpal pressure; Group B: G-BOND applied with 20 cm H₂O of pulpal pressure for 20 min. Build-up was realized with Gradia Direct LoFlo (GC Corp., Tokyo, Japan). Beams with a 1.0 mm² bonding area were obtained and stressed to failure using the microtensile tester. Two samples per group were analyzed by SEM inspection.

Results: Microtensile Bond Strength in the two groups did not presented

significantly differences with and without pulpal pressure. SEM inspection showed the presence of an higher number of voids inside the bonding layer of samples in the "pulpal pressure group".

Conclusions: the application of pulpal pressure to deep and peripheral dentin was not responsible for reduced bond strength of the new bonding system G-BOND. The study demonstrated that pulpal pressure do not influence the adhesion of G-BOND.

Key words:

Permeability, water uptake, hydrophilic polymers, dentine bonding systems, microtensile bond strength, water droplets, SEM.

INTRODUZIONE

I sistemi adesivi proposti per utilizzo clinico di routine sono stati semplificati al fine di ridurre i tempi lavorativi ed i comuni errori applicativi (Hashimoto et al., 2005). Numerosi studi *in vivo* e *in vitro* hanno dimostrato che questi sistemi adesivi semplificati presentano alta idrofilicità, con conseguente rischio di degradazione idrolitica (De Munck et al., 2005; Chersoni et al., 2005; Yiu et al., 2006). Tale idrofilicità è legata ad un'alta concentrazione di resine idrofiliche tipo HEMA nella composizione. In effetti, si è constatato che alcuni sistemi adesivi sono altamente permeabili e, dopo la loro appli-

cazione alla dentina, non solo assorbono acqua, ma ne permettono il passaggio nello spessore del film di adesivo (Tay et al., 2004).

Inoltre, se il sistema adesivo non è perfettamente polimerizzato il passaggio d'acqua è molto rapido. Recenti studi di Sauro et al., (2006) e di Cadenaro et al., (2005) hanno dimostrato che una ridotta polimerizzazione del sistema adesivo aumenta la permeabilità dei sistemi semplificati. La spiegazione è legata al fatto che un aumento del grado di conversione del monomero adesivo porta alla formazione di una catena polimerica più ramificata con minor presenza di gruppi idrofilici funzionali ancora reattivi (Cadenaro et al., 2005). La presenza di monomeri altamente idrofilici all'interno della composizione del *primer* o del sistema adesivo (quando monocomponente) provoca la formazione di *blister* all'interno dello spessore dello strato ibrido e nello spessore della resina adesiva quando essi vengono a contatto con soluzioni acquose. (Chersoni et al., 2004; Hashimoto et al., 2005; Sauro et al., 2006; Tay et al., 2005).

Alcuni studi hanno utilizzato sostanze marcanti per evidenziare al SEM e al TEM la permeabilità dei sistemi adesivi (Tay et al., 2005). Tay e Pashley hanno dimostrato che i sistemi adesivi semplificati si comportano come membrane permeabili (Tay et al., 2004).

Tay et al. (2003) e Chersoni et al. (2005) hanno utilizzato la tecnica della replica per evidenziare il passaggio di acqua attraverso lo spessore della resina adesiva fino all'interfaccia adesivo-composito. Le microbolle di acqua sulla superficie dell'interfaccia adesivo-composito erano evidenziabili come "*droplets*" e responsabili della compromissione della forza di adesione a lungo termine e quindi del fallimento clinico dell'otturazione (Prati et al., 2005).

Sebbene i sistemi adesivi monocomponenti *self-etching* presentino buoni valori di adesione dopo l'immediata applicazione, l'associazione delle problematiche legate all'assorbimento di acqua di questi sistemi adesivi porta alla riduzione significativa dei valori di adesione dopo appena 24 h (De Munck et al., 2003).

La presenza di pressione intrapulpale permette, probabilmente, di avere i tubuli dentinali "riempiti" di fluido dentinale e quindi in grado di fornire liquidi al sistema adesivo (Pereira et al., 1999).

Tuttavia, solo pochi studi al momento sono stati in grado di verificare se l'assorbimento di acqua da parte del sistema adesivo provenga dai tubuli, dalla umidità intrinseca della dentina intertubulare o dall'ambiente esterno (ad es. l'adesivo stesso) (Sauro et al. 2006; Tay et al., 2005). Indubbiamente la presenza di una pressione intrapulpale positiva costituisce un ulteriore serbatoio di liquidi. Inoltre, c'è poca informazione circa l'effetto della pressione intrapulpale sui valori di adesione misurati con il sistema del *microtensile bond strength* (μ TBS), proposto come metodo standard di valutazione della adesione (Sano et al., 1995).

Scopo del presente studio è stato valutare *in vitro* i valori d'adesione di un nuovo sistema adesivo privo di HEMA applicato in presenza ed in assenza di pressione intrapulpale.

MATERIALI E METODI

Preparazione dei campioni

Sedici molari estratti per motivi parodontali sono stati utilizzati per questo studio. I denti sono stati conservati in acqua ad una temperatura di 4°C per non più di un mese. I segmenti coronali sono stati ottenuti sezionando la radice 1.0 mm sotto la giunzione amelo-cementizia utilizzando una mola diamantata a bassa velocità sotto abbondante getto d'acqua (Remet, Bologna, Italy). Lo smalto occlusale di ogni corona è stato successivamente rimosso eseguendo un taglio ad una distanza di 3 mm sopra la giunzione amelo-cementizia. Lo spessore della dentina residua era pari a circa 1.5 mm. La dentina esposta è stata abrasa con carta abrasiva (Grit-320) per raggiungere la dentina profonda. Il tessuto pulpare è stato rimosso dalla camera pulpare senza alterare lo strato di predentina. Ogni campione è stato poi fissato ad una piastrina di Plexiglas (2x2x0.5 cm)

con cianoacrilato (ROCKET™ Heavy DVA, USA). Ogni piastrina era dotata di un tubo in acciaio inossidabile di sezione pari a 18 gauge.

I denti sono stati suddivisi in due gruppi principali:

Gruppo A: senza applicazione di pressione pulpare

Gruppo B: con applicazione di pressione pulpare pari a 20 cm di acqua in accordo con Ciucchi et al (1995) e Prati et al. (1992).

I campioni appartenenti al gruppo A sono stati connessi al dispositivo ma senza applicazione della pressione. I campioni appartenenti al gruppo B sono stati sottoposti a pressione pulpare durante l'applicazione del sistema adesivo.

Nello studio è stato utilizzato l'adesivo *self-etching all-in-one* G-Bond (GC Corp., Tokyo Japan) applicato seguendo le indicazioni della casa produttrice (Tab. 2). La polimerizzazione del sistema adesivo è stata ottenuta con lampada alogena (XL-2500, 3M ESPE, St. Paul, MN, USA) ad una potenza non inferiore a 600 mW/cm² e ad una distanza standardizzata di 5 mm dalla superficie di adesione. L'adesivo utilizzato è stato applicato in assenza (Gruppo A) e in presenza (Gruppo B) di pressione pulpare. Dopo la polimerizzazione dell'adesivo la pressione pulpare è stata mantenuta per 20 minuti durante i quali è stato realizzato il build-up in composito (Gradia Direct LoFlo, GC Corp., Tokyo Japan) applicando strati di materiale di spessore pari a circa 1,5 mm.

Esecuzione del microtensile test

Ogni campione è stato sezionato perpendicolarmente all'interfaccia adesiva con una sega diamantata (Remet, Bologna, ITALY) sotto costante getto d'acqua in modo da ottenere stick con area di adesione di circa 1.0 mm². Sono stati utilizzati 8 denti per gruppo e sono stati ottenuti da 10 a 12 stick per dente.

Gli stick sono stati suddivisi in due sottogruppi utilizzando come elemento discriminante la vicinanza con la giunzione smalto-dentinale:

superficiali: posti alla periferia della camera pulpare, vicino alla giunzione smalto-dentinale;

profondi: posti immediatamente al di

sopra della camera pulpare ad una distanza di 1.5 mm.

Ogni stick è stato poi attaccato con cianoacrilato al jig del *microtensile tester* (Bisco Inc., Schaumburg, IL, USA) e una forza di tensione pura è stata applicata ad una velocità di 0.9 mm/min. fino al fallimento dell'adesione. L'esatta dimensione di ogni stick è stata misurata con un calibro digitale e la forza di adesione è stata calcolata dividendo la forza che ha portato a fallimento per l'area in mm². Ai campioni falliti prematuramente durante la preparazione degli stick è stato assegnato valore zero e sono stati inseriti nella analisi statistica. I risultati di adesione ottenuti sono stati sottoposti ad analisi statistica mediante *Student t test* confrontando tra loro i valori in dentina pulpare con e senza pressione ed i valori in dentina periferica con e senza pressione. Per valutare se c'erano differenze significative all'interno dello stesso gruppo sono stati sottoposti ad analisi statistica i valori di adesione in dentina pulpare e periferica.

Analisi al SEM

Due campioni per ogni gruppo sono stati sezionati longitudinalmente e trattati con EDTA 17% per 30 sec. allo scopo di rimuovere lo *smear layer* prodotto durante le fasi di taglio. Successivamente è stato effettuato un lavaggio con ipoclorito di sodio 5% (Nicol Dentale, Ogna, Italy) per 30 sec. per rimuovere i residui organici.

Ogni campione trattato è stato immerso in una soluzione fissativa al 4% di glutaraldeide tamponata con sodio cacodilato 0.2 M a pH 7.2 per 48 h. Al termine della fissazione i campioni sono stati lavati con soluzione tampone cacodilato 0.1 M.

I campioni sono stati, quindi, disidratati immergendoli in concentrazioni crescenti di alcool (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%) per 30 min. ognuno. La disidratazione si è conclusa con una fase di essiccamento all'aria, proteggendo i campioni, in modo da evitare contaminazioni.

I campioni sono poi stati metallizzati ed analizzati al SEM JEOL 5200 (JEOL, Tokio, Giappone), presente nel Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche di Bologna.

Adesivo impiegato	Composizione chimica	Valore di pH
G-BOND	4-MET: 4-methacryloxyethyltrimellitate anhydride TGD: Triethylene glycol dimethacrylate	> 2
GC Corp., Tokyo, Japan	UDMA: Urethane dimethacrylate Acetone	

Tab. 1 - Tabella dell'adesivo impiegato, sua composizione chimica e valore di pH.
Chemical composition, pH and source of tested adhesive.

Adesivo impiegato	Metodo di applicazione	Classificazione dell'adesivo
G-Bond GC Corp., Tokyo, Japan	Applicare l'adesivo usando un microbrush per 10 sec. Asciugare accuratamente per 5 sec con un getto d'aria alla massima pressione e polimerizzare per 10 sec.	One-step self-etching system

Tab. 2 - Metodo di applicazione dell'adesivo impiegato nel presente studio.
Application procedures for the DBA investigated in the study.

Forza di adesione del sistema G-BOND (Mpa)				
Materiali	Assenza di Pressione Pulpare (Gruppo A)		Presenza di Pressione Pulpare durante l'applicazione dell'adesivo (Gruppo B)	
	Dentina profonda	Dentina superficiale	Dentina profonda	Dentina superficiale
G-BOND	17.3 ± 7.2 _{a,1}	25.2 ± 5.5 _{b,2}	16.9 ± 5.2 _{a,1}	21.7 ± 7.2 _{b,2}

^a Nella colonna con i risultati di adesione in dentina pulpare i valori con lettera a pedice uguale non sono tra loro statisticamente significativi (Student t test p>0.05).
^b Nella colonna con i risultati di adesione in dentina periferica i valori con lettera a pedice uguale non sono tra loro statisticamente significativi (Student t test p>0.05).
¹ Per la colonna "Assenza di Pressione Pulpare" i valori con lettera a pedice uguale non sono tra loro statisticamente significativi (Student t test p>0.05).
² Per la colonna "Pressione Pulpare durante l'applicazione dell'adesivo" i valori con lettera a pedice uguale non sono tra loro statisticamente significativi (Student t test p > 0.05).

Tab. 3 - Valori di adesione (media ± dev. Standard) del sistema G-BOND applicato in presenza ed in assenza di pressione pulpare. I valori sono stati analizzati usando *student t test* (n = 6 per ogni gruppo).

Microtensile bond strengths of the self-etch adhesive bonded to deep and peripheral dentin with and without pulpal pressure application.

RISULTATI

I valori di adesione del sistema G-BOND sono mostrati in Tabella 3. All'interno dello stesso gruppo sono

presenti differenze statisticamente significative tra i due sottogruppi (p<0.05). Non sono invece presenti differenze significative confrontando rispettivamente i valori in dentina profonda e superficiale dei due gruppi (p>0.05) (Tab. 3).

Materiale	% di cambiamento in presenza di pressione pulpale in dentina profonda	% di cambiamento in presenza di pressione pulpale in dentina superficiale
G-BOND	- 2.3	- 13.9

Tab. 4 - Percentuale di cambiamento della forza di adesione del sistema adesivo G-BOND in dentina profonda e superficiale sottoposto a pressione pulpale pari a 20 cm d'acqua.

Percentage of microtensile bond strength change in deep and peripheral dentin under pulpal pressure.

La forza di adesione del G-BOND in presenza di pressione intrapulpale è diminuita del 2.3% in dentina profonda e del 13.9% in dentina superficiale (Tab. 4).

L'indagine al SEM dei campioni appartenenti ad entrambi i gruppi ha mostrato la presenza di un ridotto numero di vuoti nello spessore dello strato di adesivo (Figg. 2 e 4). Tuttavia i campioni appartenenti al gruppo B hanno mostrato la presenza di un numero di vuoti leggermente superiore rispetto a quelli trovati nei campioni del gruppo A (Fig. 4). Analizzando la compenetrazione del sistema adesivo all'interno dei tubuli dentinali si è notata la presenza di un maggior numero di *resin*

tags nei campioni appartenenti al gruppo A rispetto ai campioni del gruppo B (Figg. 1 e 3).

DISCUSSIONE

I sistemi adesivi sono stati introdotti nei primi anni '80 per contrastare la contrazione volumetrica delle resine composite usate come materiali restaurativi, per realizzare un sigillo marginale e per prevenire la dislocazione del restauro durante la funzione masticatoria (Prati, 1998).

Le prime generazioni di adesivi denti-

nali erano relativamente idrofobiche ed era richiesto un substrato asciutto per ottenere adesione. Gli adesivi erano applicati sullo smear layer ma non erano in grado di infiltrarlo realizzando così una forza di adesione ridotta ed insufficiente (Prati, 1994). Nel 1979 Fusayama et al. introdussero la tecnica *total-etch* in cui smalto e dentina venivano mordenzati con lo stesso acido per tempi diversi allo scopo di rimuovere lo *smear layer* ed esporre le fibre collagene. Tale procedura determina l'apertura dei tubuli dentinali, aumenta la permeabilità del substrato e quindi la quantità di acqua presente sul fondo della cavità. Le resine adesive, ancora molto idrofobiche, incontravano quindi grossi problemi nel compenetrare le fibre collagene e creare un legame micromeccanico (Prati et al., 1995). Successivamente è stata aggiunta alla composizione dell'adesivo 2-idrossietil metacrilato (HEMA), una resina dotata di grande idrofilicità e quindi capace di infiltrare la dentina mordenzata e di tollerare una maggiore umidità. Con l'introduzione dei sistemi *self-etching* è stata aggiunta alla formulazione dell'adesivo una maggiore concentrazione di monomeri resinosi acidi per permettere la dissoluzione

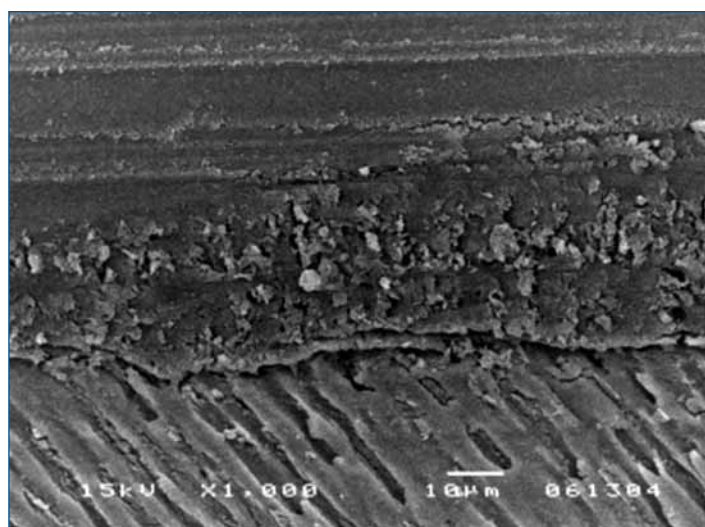


Fig. 1 - Morfologia ultrastrutturale del campione appartenente al gruppo A. Un numero ridotto di vuoti è visibile nello spessore della resina adesiva probabilmente dovuto all'assorbimento di acqua dall'ambiente circostante. Numerosi *resin tags* si evidenziano all'interno dei tubuli dentinali. *SEM micrograph of sample of group A. A reduced number of voids were presented inside adhesive layer. Many resin tags was showed.*

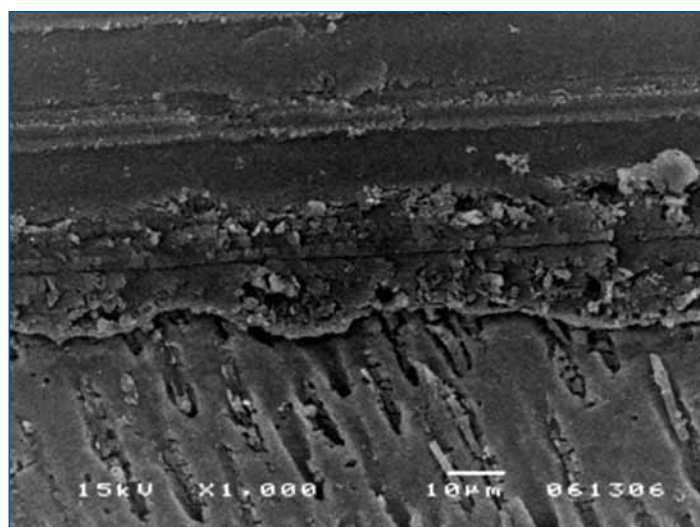


Fig. 2 - Morfologia ultrastrutturale del campione appartenente al gruppo A. Si possono osservare anche piccoli vuoti all'interno degli zaffi di resina che penetrano i tubuli dentinali.

SEM micrograph of sample of group A. Small voids inside resin tags were identified.

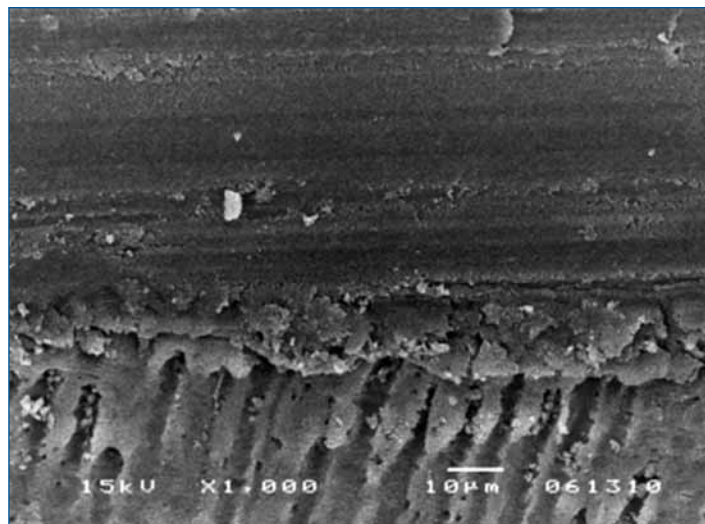


Fig. 3 - Morfologia ultrastrutturale del campione appartenente al gruppo B. Un numero minore di resin tags è visibile all'interno dei tubuli dentinali rispetto ai campioni del gruppo A.

SEM micrograph of sample of group B. A lower number of resin tags were identified than ones in group A.

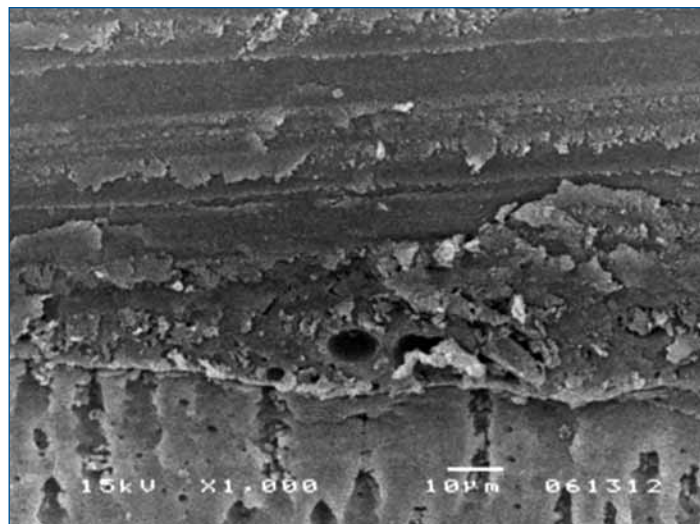


Fig. 4 - Morfologia ultrastrutturale del campione appartenente al gruppo B. Un numero maggiore di vuoti è visibile nello spessore della resina adesiva rispetto ai campioni del gruppo A.

SEM micrograph of sample of group B. Several voids were identified inside adhesive layer.

dello *smear layer* e demineralizzare la dentina sottostante (Van Meerbeek et al., 2003). Nonostante l'aggiunta di monomeri resinosi acidi e idrofilici abbia sostanzialmente semplificato l'utilizzo dei dentin bonding systems e migliorato l'adesione dei sistemi *total-etch* e *self-etch*, pochi produttori hanno investigato i potenziali problemi associati all'alta idrofilicità (Tay et al., 2003). Questi sistemi adesivi sono capaci di realizzare un forte legame con la dentina dopo l'immediata applicazione ma sfortunatamente è stato dimostrato che l'interfaccia resina-dentina si altera nel tempo a contatto con i fluidi (De Munck et al., 2003). L'instabilità dei sistemi adesivi smalto-dentinali è stata attribuita alla qualità dello strato ibrido e quindi alla sua natura porosa, la quale condiziona i sistemi adesivi a comportarsi come una struttura permeabile e suscettibile all'azione idrolitica da parte dell'acqua (Suppa et al., 2005; Yiu et al., 2006; Tay et al., 2004). In pratica, possiamo affermare che i sistemi adesivi che incorporano resine idrofiliche (tipo HEMA) presentano una matrice polimerica potenzialmente instabile, che assorbe acqua e causa la degradazione nel tempo dei legami tra i monomeri che costituiscono la matrice polimerica (Ferracane 2006;

Yiu et al., 2004). L'assorbimento di acqua all'interno della matrice polimerica dei moderni sistemi adesivi (Tay et al., 2004) causa un fenomeno, noto con il nome di "*plasticization*", il quale sembra essere correlato con la perdita di legami intermolecolari all'interno della matrice polimerica (Ferracane et al., 2006). Inoltre, si verifica un'alterazione idrolitica delle fibrille collagene solo parzialmente protette (Osorio et al., 2005; Hashimoto et al., 2003). Le molecole d'acqua che sono fermamente legate ai gruppi idrofilici della struttura polimerica causano una riduzione delle proprietà meccaniche alterando conseguentemente la stabilità strutturale delle catene polimeriche (Malacarne et al., 2006). I polimeri resinosi più idrofilici sono, inoltre, responsabili di un rapido rilascio di monomero residuo attraverso le nano-porosità del materiale, che portano ad un ulteriore indebolimento della massa polimerica in tempi brevi dopo il contatto con l'acqua. Tale processo dipende dal grado di conversione e dalle molecole non reagite all'interno del network (Sideridou et al., 2003). Inoltre, il legame tra adesivi *self etching* semplificati e compositi è anche ostacolato a causa dell'intrinseca permeabilità e idrofilicità di questi adesivi

(Carvalho et al., 2004; Chersoni et al., 2004). L'applicazione di diversi strati di adesivo aumenta solo il tempo richiesto all'acqua per passare dall'esterno all'interno dello strato ibrido, ma non ne riduce la permeabilità (Chersoni et al., 2005).

Il presente studio dimostra che il sistema adesivo G-BOND non è risultato affetto dalla presenza di pressione intrapulpare, infatti entrambi i gruppi in esame hanno dimostrato valori di adesione simili.

Tale prodotto, HEMA-free, sembra quindi in grado di impedire il rapido assorbimento di acqua durante le fasi che precedono la polimerizzazione del sistema adesivo e del composito.

Il G-BOND è un sistema adesivo in cui il monomero HEMA è stato sostituito da una molecola relativamente meno idrofila chiamata *4-methacryloxyethyltrimellitate anhydride* (4-MET). Inoltre, il monomero funzionale acido *triethylene glycol dimethacrylate* (TGD) è stato inserito nella formulazione. Tale molecola, proprio per la sua struttura chimica, ha una minore capacità di penetrare all'interno della dentina demineralizzata dall'acido portando alla formazione di uno strato ibrido molto sottile definito *nano interaction zone* (NIZ) e, una volta polimerizzata, si inattiva evi-

tando di richiamare acqua dall'ambiente circostante. Questo potrebbe spiegare perché la forza di adesione ottenuta (Tab. 3) è risultata inferiore rispetto a quella di altri prodotti presenti sul mercato ma si mantiene pressoché costante anche in presenza di pressione pulpare (Sauro et al., 2006).

Infatti, Prati et al. (1992) hanno dimostrato che man mano che diminuisce l'RDT (*Remained Dentin Thickness*), aumentano sia l'umidità del substrato che la permeabilità dentinale, e risultano variabili estremamente importanti durante l'applicazione dell'adesivo.

Nel presente studio è stato scelto di dividere gli stick in superficiali e profondi data la maggiore permeabilità della dentina posta in prossimità dei cornetti pulpari e per la differente disposizione dei tubuli dentinali che, a livello della periferia, appaiono pressoché paralleli alla superficie e sezionati a becco di flauto. Nella dentina più profonda, invece, i tubuli sono molto più numerosi e decorrono perpendicolarmente alla superficie di adesione. I valori di adesione ottenuti, infatti, erano statisticamente differenti ($p < 0.05$) tra dentina superficiale e profonda probabilmente proprio a causa delle differenze anatomiche e strutturali del substrato. I risultati ottenuti dimostrano che il G-BOND presenta una scarsa suscettibilità alla permeabilità dentinale ed alla sua umidità intrinseca, infatti non sono presenti differenze statisticamente significative tra i valori di adesione in assenza ed in presenza di pressione intrapulpare ($p > 0.05$).

Molti sistemi adesivi contengono una concentrazione relativamente alta di solvente per impedire la separazione di fase (Van Landuyt et al., 2005) dei monomeri idrofilici (HEMA), per migliorare la bagnabilità e la penetrazione dell'adesivo all'interno della dentina (Tay et al., 2003). I vuoti riscontrati all'analisi al SEM sono probabilmente colle-

	Numero dei resin tags / 50 μ^2	Lunghezza dei resin tags	% dei resin tags presenti
No pressione pulpare	12	30 micron	60%
Presenza di pressione intrapulpare	3	5 micron	20%

Tab. 5 - Percentuale, numero e lunghezza dei resin tags riscontrati nei campioni all'analisi al SEM.

Percentage, number and length of resin tags presented in samples.

gati a questi fenomeni di diffusione da parte dell'acqua e sono potenziali siti di degradazione idrolitica che potrebbe ridurre la longevità delle otturazioni (Prati et al., 2005).

Contrariamente a quanto avviene con gli adesivi a base HEMA, un recente studio ha evidenziato che gli adesivi a base 4-MET sono meno suscettibili all'assorbimento di acqua e alla separazione di fase quando vengono immersi in soluzione acquosa (Unemori et al., 2003; Van Landuyt et al., 2005). Il nostro studio risulta quindi su questa linea. Eccetto le differenze nella composizione chimica e nella presenza di una minor quantità di monomeri idrofilici, il successo del G-BOND potrebbe essere dovuto al suo modo singolare di applicazione che prevede l'evaporazione del solvente acetico con un forte getto d'aria prima della polimerizzazione (Spreafico et al., 2006). Un getto potente e duraturo apparentemente migliora la penetrazione del sistema adesivo nel network collagenico e migliora la qualità dello strato ibrido che porta probabilmente ad una ridotta permeabilità ai fluidi (Hashimoto et al., 2005).

L'analisi al SEM è stata effettuata per valutare la presenza di vuoti all'interno dello spessore di adesivo. A causa della notevole idrofilicità dei monomeri resinosi contenuti nei sistemi adesivi

all-in-one, questi materiali tendono ad accumulare acqua all'interno dello spessore dello strato adesivo provocando una caduta della adesione. Il risultato di questo processo di assorbimento si evidenzia al SEM con la presenza di vuoti (Figg. 2 e 4).

Le immagini ottenute hanno evidenziato la ridotta presenza di vuoti sia nel gruppo A che nel gruppo B (Figg. 1 e 2) sottolineando la stabilità e la predicibilità di risultato del sistema adesivo impiegato. Nel gruppo B sono stati individuati un maggior numero di vuoti rispetto al gruppo A probabilmente a causa della applicazione di una pressione, ma tale differenza non era statisticamente significativa.

Analizzando lo spessore dello strato ibrido si è notato che i campioni del gruppo B presentavano un numero inferiore ed una minore lunghezza dei *resin tags* probabilmente a causa della presenza di acqua all'interno dei tubuli dentinali che ha impedito la penetrazione della resina adesiva (Tab. 5). Confrontando i valori ottenuti al microtensile e lo spessore dello strato ibrido è stato confermato che lo spessore e il numero dei *resin tags* non influisce sull'entità dell'adesione, ma che questa è legata essenzialmente dalla penetrazione della resina all'interno della trama di fibre collagene presenti sulla superficie dentinale (Prati, 1998).

BIBLIOGRAFIA

1. Cadenaro M, Antonioli F, Sauro S, Tay FR, Di Lenarda R, Prati C, Biasotto M, Contardo L, Breschi L. Degree of conversion and permeability of dental adhesives. *Eur J Oral Sci* 2005;113:525-30.

2. Carvalho RM, Pegoraro TA, Tay FR, Pegoraro LF, Silva NRPashley DH. Adhesive permeability affects coupling of resin cements that utilize self-etching primers to dentine. *J Dent* 2004;32:55-65.

3. Chersoni S, Acquaviva G.L, Prati C., Ferrari M, Grandini S, Pashley DH, Tay FR. *In vivo* fluid movement through dentin adhesives in endodontically treated teeth. *J Dent Res* 2005;84:223-227.

4. Chersoni S, Suppa P, Breschi L, Tay FR, Pashley DH, Prati C. Water movement in the hybrid layer after different dentin treatments. *Dent Mater* 2004;20:796-803.
5. Chersoni S, Suppa P, Grandini S, Goracci C, Monticelli F, Yiu C, Huang C, Prati C, Breschi L, Ferrari M, Pashley DH, Tay FR. *In vivo* and *in vitro* permeability of one-step self etch adhesives. *J Dent Res* 2004;83:459-464.
6. Ciucchi B, Bouillaguet S, Holz J, Pashley DH. Dentinal fluid dynamics in human teeth, *in vivo*. *J Endodont* 1995;21:191-194.
7. De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, Van Meerbeek B. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res* 2005;84:118-132.
8. De Munck J, Van Meerbeek B, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Suzuki K, Lambrechts P, Vanherle G. Four-year water degradation of total-etch adhesives bonded to dentin. *J Dent Res* 2003;82:136-140.
9. Ferracane JL. Hygroscopic and hydrolytic effect in polymer networks. *Dent Mater* 2006;22:211-222.
10. Fusayama T, Nakamura M, Kurosaki N, Iwaku M. Non-pressure adhesion of a new adhesive restorative resin. *J Dent Res* 1979;58:1364-70.
11. Hashimoto M, Tay FR, Ohno H, Sano H, Kaga M, Yiu CKY, Kumagai H, Kudou Y, Kubota M, Oguchi H. SEM and TEM analysis on water degradation of human dentinal collagen. *J Biomed Mater Res* 2003;66:287-298.
12. Hashimoto M, Tay FR, Ito S, Sano H, Kaga M, Pashley DH. Permeability of adhesive resin films. *J Biomed Mater Res* 2005;74:99-705.
13. Malacarne J, Carvalho RM, de Goes MF, Svizero N, Pashley DH, Tay FR, Yiu CK, de Oliveira Carilho MR. Water sorption/solubility of dental adhesive resins. *Dent Mater* 2006;22:973-80.
14. Osorio R, Erhardt MCG, Pimenta LAF, Osorio E, Toledano M. EDTA treatment improves resin-dentin bonds' resistance to degradation. *J Dent Res* 2005; 84:736-740.
15. Pereira PN, Okuda M, Sano H, Yoshikawa T, Burrow MF, Tagami J. Effect of intrinsic wetness and regional difference on dentin bond strength. *Dent Mater* 1999;15:46-53.
16. Prati C. What is the critical relevance of *in vivo* dentine permeability tests? *J Dent* 1994;22:83-88.
17. Prati C. *In vitro* and *in vivo* adhesion in operative dentistry: a review and evaluation. *Pract Periodontic Aesthet Dent* 1998; 10:319-27.
18. Prati C, Chersoni S, Acquaviva GL, Breschi L, Suppa P, Tay FR, Pashley DH. Permeability of marginal hybrid layers in composite restorations. *Clin Oral Investig* 2005;9:1-7.
19. Prati C, Ferrieri P, Galloni C, Mongiorgi R, Davidson CL. Dentine permeability and bond quality as affected by new bonding systems. *J Dent* 1995;23:217-26.
20. Prati C, Pashley DH. Dentine wetness, permeability and thickness and bond strength of adhesive systems. *Am J Dent* 1992;5:33-8.
21. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B, Russel CM, Pashley DH. Tensile properties of resin-infiltrated demineralized human dentin. *J Dent Res* 1995;74:1093-1102.
22. Sauro S, Pashley DH, Montanari M, Chersoni S, Carvalho RM, Toledano M, Osorio R, Tay FR, Prati C. Effect of simulated pulpal pressure on dentin permeability and adhesion of self-etch adhesives. *Dent Mater* 2006;23:705-13.
23. Sauro S, Watson TF, Tay FR, Chersoni S, Breschi L, Bernardi F, Prati C. Water uptake of bonding systems applied on root dentin surfaces: A SEM and confocal microscopic study. *Dent Mater* 2006;22:671-80.
24. Sideridou I, Tserki V, Papanastasiou G. Study of water sorption, solubility and modulus of elasticity of light-cured dimethacrylate-based dental resins. *Biomaterials* 2003;24:655-65.
25. Spreafico D, Semeraro S, Mezzanzanica D, Re D, Gagliani M, Tanaka T, Sano H, Sidhu SK. The effect of the air-blowing step on the technique sensitivity of four different adhesive systems. *J Dent* 2006; 34:237-244.
26. Suppa P, Breschi L, Ruggeri A, Mazzotti G, Prati C, Chersoni S, Di Learda R, Pashley DH, Tay FR. Nanoleakage within the hybrid layer: a correlative FEISEM/TEM investigation. *J Biomed Mater Res* 2005; *Appl Biomater* 73B:7-14.
27. Tay FR, Pashley DH. Have Dentin Adhesives Become Too Hydrophilic? *J Can Dent Assoc* 2003;69:726-731.
28. Tay FR, Pashley DH, Garcia-Godoy F, Yiu CK. Single-step, self-etch adhesives behave as permeable membranes after polymerization. Part II. Silver tracer penetration evidence. *Am J Dent* 2004;17:315-22.
29. Tay FR, Pashley DH, Yiu CK, Sanares AM, Wei SH. Factors contributing to the incompatibility between simplified-step adhesives and self-cured composites. Part I. Single-step adhesive. *J Adhes Dent* 2003; 5:27-40.
30. Tay FR, Pashley DH, Suh BI, Hiraishi N, Yiu CKY. Buonocore Memorial Lecture. Water treeing in simplified dentine adhesives - Deja vu? *Oper Dent* 2005;30:561-579.
31. Unemori M, Matsuya Y, Matsuya S, Akashi A, Akamine A. Water absorption of poly(methylmethacrylate) containing 4-methacryloxyethyl trimellitic anhydride. *Biomaterials* 2003;24:1381-7.
32. Van Landuyt KL, De Munck J, Snauwaert J, Coutinho E, Poitevin A, Yoshida Y, Inoue S, Peumans M, Suzuki K, Lambrechts P, Van Meerbeek B. Monomer-solvent phase separation in one-step self-etch adhesives. *J Dent Res* 2005;84: 183-8.
33. Van Meerbeek B, De Munck J, Yoshida Y, Inoue S, Vargas M, Vijay P, Van Landuyt K, Lambrechts P, Vanherle G. Buonocore memorial lecture. Adhesion to enamel and dentin: current status and future challenges. *Oper Dent* 2003;28:215-235.
34. Yiu CK, King NM, Pashley DH, Suh BI, Carvalho RM, Carrilho MR, Tay FR. Effect of resin hydrophilicity and water storage on resin strength. *Biomater* 2004;25: 5789-5796.
35. Yiu CKY, King NM, Carrilho MRO, Sauro S, Rueggeberg Prati C, Carvalho RM, Pashley DH, Tay FR. Effect of resin hydrophilic and temperature on water sorption of dental adhesive resins. *Biomaterials* 2006;27:1695-703.

Analisi fonetica in bambini affetti da Displasia Ectodermica riabilitati protesicamente. Phonetic analysis in prosthetically rehabilitated children with Ectodermal Dysplasia.

M. Montanari[°], F. Battelli^{°°}, S. Sangiorgi^{°°}, C. Nucci[°], P. Malucelli^{°°°}, M. Guidotti^{°°°}, G. Piana[°].

[°]Dottorato di Ricerca in Odontoiatria per Disabili, *Alma Mater Studiorum*, Università di Bologna, Coordinatore: Prof. Gabriela Piana

^{°°}Servizio di Odontoiatria per Disabili, Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, *Alma Mater Studiorum*, Università di Bologna, Direttore: Prof. Carlo Prati

^{°°°}Unità Operativa Otorinolaringoiatria, Dipartimento Attività integrate, Policlinico S.Orsola - Malpighi, Bologna, Direttore: Prof. Alberto Rinaldi Ceroni

Le Displasie Ectodermiche sono caratterizzate da alterazioni dei derivati ectodermici (denti, capelli, cute, ghiandole). L'oligo/anodonzia rappresenta un serio problema sotto il profilo funzionale e psicologico e richiede una riabilitazione protesica precoce. Nello studio è stato valutato l'effetto della riabilitazione protesica sulla fonasi e sull'articolazione della parola.

Riassunto

Le Displasie Ectodermiche (E.D.s) sono un gruppo eterogeneo di patologie ereditarie caratterizzate da anomalo sviluppo di derivati ectodermici. La forma più comune è la Displasia Ectodermica Ipoidrotica caratterizzata da oligo-anodonzia, ipotricosi, ipo-anidrosi. L'oligo-anodonzia è una delle manifestazioni più severe perché coinvolge masticazione, fonazione ed estetica.

Obiettivo dello studio è valutare la funzione fonatoria in soggetti con E.D.s in età evolutiva riabilitati protesicamente; a tale scopo sono stati sottoposti a valutazione del bilancio fonetico e ad analisi spettrografica del suono prodotto 7 pazienti di età compresa tra i 3 e 14 anni. Dal presente studio emerge che il campione esaminato presenta una elevata prevalenza di dislalie e che la qualità dell'articolazione della parola è influenzata dal tempo trascorso dall'inizio della riabilitazione protesica. I bambini riabilitati protesicamente necessiterebbero quindi di trattamento logopedico per facilitare l'adattamento alla nuova condizione orale e la formazione di schemi neuro-muscolari corretti.

Parole chiave: Displasia Ectodermica, Riabilitazione protesica, Analisi fonetica.

Abstract

Ectodermal Dysplasia Syndromes (E.D.s) are an heterogeneous group of inheritable diseases characterized by abnormal development of tissues of ectodermal origin (hair, nails, teeth, glands). The most common form is Hypohidrotic Ectodermal Dysplasia, characterized by: oligo-anodontia, hypotricosis and hypo-anhydrosis. Oligo-Anodontia is one of the most severe impairment affecting chewing, speech and aesthetics.

The aim of this study is to evaluate the effect of prosthetic rehabilitation on phonetic function in children with EDs. Materials and methods. 7 patients from 3 to 14 yrs were selected. Phonetic and spectral analysis of the produced sound were then evaluated. Results: phonetic analysis showed that speech is influenced by the time-expired from the beginning of prosthetic rehabilitation. Conclusions. All children rehabilitated with denture need a logopedic treatment in order to help the compliance to the new oral condition and the formation of proper neuromuscular patterns.

Key words: Ectodermal Dysplasia, Prosthetic rehabilitation, Phonetic analysis.

1. Introduzione

Le displasie ectodermiche

Le Displasie Ectodermiche (E.D.s) sono malattie genetiche caratterizzate da difetti di una o più strutture di origine ectodermica (capelli, unghie, denti, ghiandole). Le E.D.s conosciute sono più di 200⁽¹⁻⁵⁾. L'incidenza è stimata in circa 7 su 10.000 nati vivi. Possono essere sporadiche o trasmettersi secondo tutti i modelli Mendeliani. Esistono numerose classificazioni: nel 2001 M. Priolo e C. Laganà⁽¹⁾ hanno proposto una classificazione che correla i dati genetico-molecolari con le corrispondenti caratteristiche cliniche. Il quadro clinico è caratterizzato da cute secca e sottile, in alcuni casi sede di anomalie (pigmentazione reticolare, depigmentazione, desquamazione, teleangiectasie, atrofia, ipercheratosi^(3,4)); capelli solitamente chiari, radi e fragili; ciglia, sopracciglia e bulbi piliferi radi o assenti; alterazioni ungueali (in alcuni casi distrofiche, iperconvesse, discolorate)^(5,6); anomalie dentali ^(2,7,8) (di numero, forma, struttura); ghiandole in numero ridotto o ipoplasiche (in particolare la riduzione o assenza delle sudoripare è responsabile di intolleranza al caldo e di iperpiressia, potenziale causa di morte nei primissimi anni di vita); frequenti patologie otorinolaringoiatriche (riniti, faringiti, otiti medie), potenziali cause di ipoacusia e disfonia^(3,6). L'ipoplasia delle ghiandole lacrimali può essere responsabile di alterazioni oculari (ridotta lacrimazione, cataratta, strabismo, panuveite bilaterale)⁽³⁾. Vi può essere riduzione o assenza

delle ghiandole sudoripare^(6,7) e spesso ipoplasia delle ghiandole salivari con conseguente xerostomia⁽⁹⁾.

La più frequente tra le E.D.s è la Displasia Ectodermica Ipoidrotica (H.E.D), definita anche sindrome X-linked (OMIM 305100). E' causata da una mutazione genetica nella regione del braccio lungo (Xq 12.2–13.1) del cromosoma X⁽¹⁰⁾; ha penetranza ed espressività complete solo nel maschio al quale viene trasmessa dalla madre portatrice, che può presentare solo alcuni segni clinici in forma lieve. È caratterizzata dalla triade sintomatologica: ipo-anidrosi, ipo-tricosi e oligo-anodonzia^(1,7,8). Nel 65% dei casi sono presenti eczema e asma.

La prevalenza di anomalie dentali nei soggetti affetti da H.E.D. è elevata (80%).

Le anomalie possono essere di numero (dall'agenesia di alcuni elementi fino all'anodonzia, **Fig.1**), di forma (denti frontali di forma conoide, denti posteriori di dimensioni ridotte), di struttura (ipoplasie dello smalto)^(2,7,8).



Fig.1- Ortopantomografia di paziente affetto da Displasia Ectodermica con anodonzia

L'agenesia degli elementi dentari è responsabile del mancato sviluppo dei processi alveolari, caratterizzati da creste a profilo lamellare^(5,11,8) (**Fig.2**).



Fig.2- Modelli in gesso dove si notano le creste alveolari con profilo a lama di coltello

L'oligo/anodonzia, rappresenta una delle menomazioni più gravi sotto il profilo funzionale (masticazione, deglutizione, fonetica)⁽⁷⁾, estetico e di conseguenza psicologico (aspetto vecchieggiante dei bambini con anodonzia)^(6,12) (**Fig. 3**).



Fig.3- *Facies caratteristica di paziente affetto da Displasia Ectodermica. Si nota l'aspetto vecchieggiante, la riduzione del terzo inferiore del viso e le ali del naso ipoplasiche*

Di conseguenza è molto importante riabilitare precocemente il cavo orale del bambino attraverso un intervento interdisciplinare realizzato da un “team odontoiatrico”, composto da odontoiatra infantile, protesista, ortodontista e chirurgo, che interagisce nell’ambito delle specifiche competenze con il “team medico”, composto da genetista, pediatra, psicologo, dermatologo, otorinolaringoiatra, foniatra e logopedista, nell’obiettivo comune di promuovere la salute del paziente ⁽¹³⁾. Particolare attenzione deve essere rivolta alla funzione fonetica, in relazione alle alterazioni prodotte sia dall’assenza dei denti anteriori che dall’inserimento di manufatti protesici.

1.2. Dislalie

Le dislalie sono alterazioni nell’articolazione dei suoni con distorsione, sostituzione, omissione di alcuni fonemi⁽¹⁴⁾. In base all’eziopatogenesi le dislalie sono classificate in centrali, audiogene, fisiologiche e organiche (Tab. I).

TIPO DI DISLALIA	FATTORI CAUSALI
Centrali o neurogene	Stati patologici o esiti a carico del sistema nervoso centrale
Audiogene	Alterato controllo acustico della voce
Fisiologiche o evolutive	Forme transitorie durante le fasi di sviluppo dell'articolato dentario
Organiche o meccaniche periferiche	Alterazioni anatomiche o funzionali del sistema di articolazione (labbra, denti, palato)

Tab. I- Classificazione delle dislalie

I pazienti edentuli e quelli portatori di protesi rimovibili sono interessati da dislalie organiche o meccaniche periferiche.

Le organiche, in base alla sede dell'errata impostazione del fonema, sono suddivise in dentali, labiali, linguali, palatali (del palato duro) e velari (del palato molle).

I denti più importanti per l'articolazione dei fonemi sono gli anteriori superiori⁽¹⁵⁻¹⁷⁾; loro alterazioni (mancata eruzione, malformazioni, malposizioni, diastemi) possono causare dislalie. Nelle dislalie dentali è compromessa la pronuncia delle consonanti labio-dentali, linguo-dentali e linguo-alveolari. Influenzano la fonesi anche interventi che modificano forma e posizione dei denti e l'inserimento di protesi e di apparecchi ortodontici, essendo responsabili di modificazioni sia dell'area di articolazione della parola che dello spazio in cui la lingua è libera di muoversi ^(17,18).

3. *Maturazione degli schemi neuromuscolari ed effetti dell'oligo-anodonzia congenita sullo sviluppo fonetico*

Alla nascita non esistono schemi neuromuscolari del linguaggio⁽¹⁹⁾. Nel lattante, ad una fase iniziale di diffusa ipertonia muscolare e di incoordinazione, segue una fase di normalizzazione del tono muscolare per il maggior controllo da parte della corteccia cerebrale. Questa progressiva normalizzazione è la base per l'articolazione della parola e per l'elaborazione del linguaggio⁽¹⁹⁾. Nella costruzione delle parole il bambino utilizza gli schemi fonetici sperimentati nella lallazione⁽²⁰⁾. La conformazione strutturale necessaria per ogni suono è il risultato di uno schema neuromuscolare specifico. L'ordine di apprendimento dei fonemi è legato alla maturazione degli schemi neuromuscolari, a sua volta legata alla crescita scheletrica e dentale.

Un armonico sviluppo delle arcate e dei germi dentari ed una corretta sequenza eruttiva sono i presupposti indispensabili per una corretta funzione fonatoria. I muscoli si adattano alle variazioni

scheletriche e dentali ed acquisiscono una “memoria” stabilendo un adeguato spazio fonetico determinato dalla lunghezza dei denti e dalla larghezza delle arcate dentarie.

Nel caso di completa perdita degli elementi dentali rimane la memoria dello schema neuromuscolare: la presenza dei denti è quindi scarsamente influente una volta memorizzati gli schemi^(14,20). Nell’adulto, la perdita di elementi dentari e di osso alveolare e la diminuzione della dimensione verticale non incidono in modo significativo sull’articolazione dei fonemi: lingua, labbra e guance compensano e sostituiscono la zona articolatoria dento-alveolare modificando il flusso d’aria⁽¹⁶⁾.

Nel bambino, al contrario, l’oligo-anodonzia causa una posizione ed una mobilità della lingua anomale, responsabili di alterazioni dell’articolazione della parola, in particolare delle consonanti ad articolazione dentale e di quelle che si articolano tra lingua, palato e processi alveolari.

In particolare, i pazienti affetti da E.D.s. sono soggetti a due tipi di difetti del linguaggio: difetti nell’articolazione di fonemi, in particolare consonanti sibilanti (*s, sc*) e linguo-dentali (*t, d*) a causa della mancanza di denti o della loro forma conoide (responsabile di ampi diastemi) e voce rauca a causa dell’ipoplasia delle ghiandole mucose laringee.

Scopo dello studio è valutare la funzione fonatoria in soggetti affetti da E.D.s. in età evolutiva, con oligo/anodonzia, riabilitati protesicamente.

2. Materiali e Metodi

Il gruppo di studio è costituito da sette pazienti affetti da E.D.s., di età compresa tra i 3 e i 14 anni, con oligo/anodonzia, riabilitati protesicamente da un periodo di tempo compreso da poche ore a 11 anni e 6 mesi. La riabilitazione è stata effettuata presso il Servizio di Odontoiatria per Disabili del Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche (*Alma Mater Studiorum*, Università di Bologna) mediante protesi mobili totali e/o parziali con viti di espansione, inserite allo scopo di assecondare la crescita dei mascellari (**Fig. 4**).

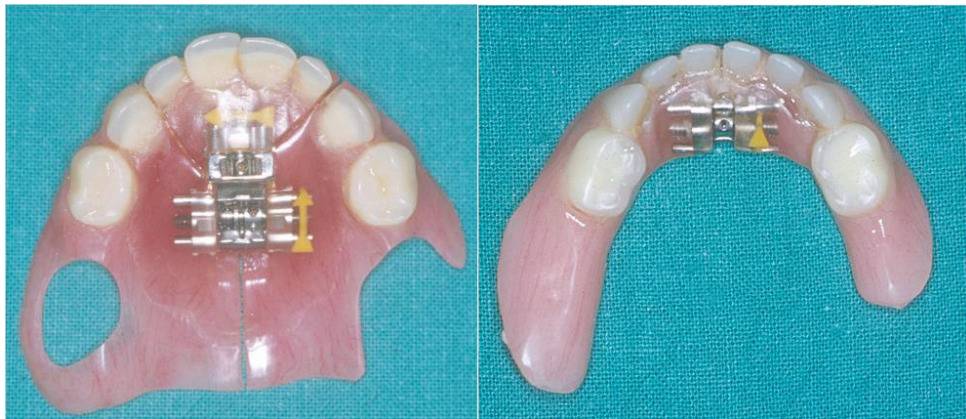


Fig.4- *Protesi rimovibili con viti di espansione inserite (a due vie per l'inferiore e a tre vie per il superiore) per assecondare la crescita dei mascellari*

La funzione fonatoria è stata valutata mediante bilancio fonetico e analisi spettrografica del suono prodotto. I test sono stati effettuati presso il Servizio di Foniatria-Logopedia dell'Unità Operativa Otorinolaringoiatria del Policlinico S.Orsola-Malpighi di Bologna.

L'analisi spettrografica del suono prodotto è stata condotta su spettrogrammi eseguiti utilizzando il programma CSC Main Program (KAY). L'analisi divide in unità minime (MSSU, minimal speech sound units) il suono prodotto pronunciando una parola. Il segnale vocale registrato, sottoposto a scansione mediante filtri a banda stretta (45 Hz) e a banda larga (300 Hz), è tradotto in spettrogrammi. Lo spettrogramma a banda stretta mette in evidenza le strutture armoniche del segnale vocale e permette di valutare la presenza e la regolarità della struttura armonica del segnale, la frequenza di vibrazione delle corde vocali, la presenza della componente aperiodica o di rumore del segnale, tipico delle sindromi disfoniche, la diplofonia. Lo spettrogramma a banda larga mette in evidenza le formanti (raggruppamenti di armoniche), che dipendono dalla risonanza della cavità oro-rino-faringea (tratto vocale). Le formanti di un suono sono inversamente proporzionali all'ampiezza anatomica del tratto vocale che lo produce, quindi il bambino ha formanti più alte dell'adulto. Gli spettrogrammi consentono di effettuare in maniera obiettiva l'analisi acustica del segnale vocale (modo di emissione del suono) e sono abitualmente utilizzati per lo studio delle patologie vocali.

Il bilancio fonetico e l'analisi spettrografica del suono prodotto sono stati condotti utilizzando una serie di parole, la cui pronuncia è stata sollecitata da una logopedista. Considerata la presenza di bambini in età prescolare ogni parola è stata affiancata da un'immagine rappresentativa (**Fig.5**).

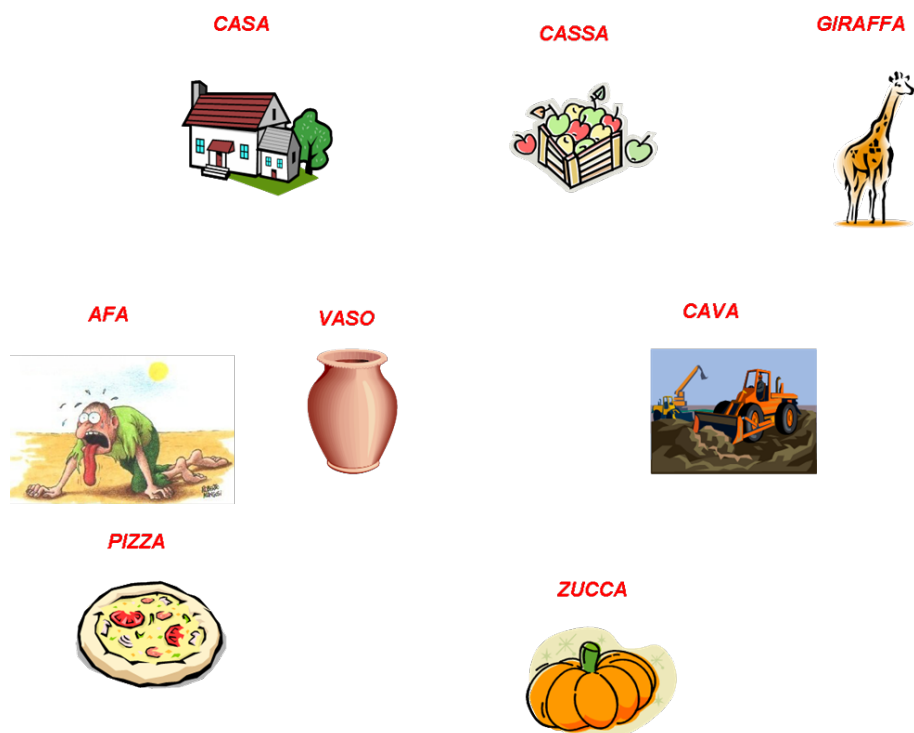


Fig.5- Immagini utilizzate per effettuare il bilancio fonetico e l'analisi spettrografica del suono.

Le parole utilizzate sono state:

- Casa;
- Cassa;
- Giraffa;
- Afa;
- Vaso;
- Cava;
- Pizza;
- Zucca;

Per il bilancio fonetico sono stati annotati su apposita tabella di valutazione i fonemi corretti, omessi, distorti, nasalizzati. (Tab II).

TABELLA DI VALUTAZIONE DELL'ARTICOLAZIONE

Cognome _____ Nome _____ Età _____ Data _____

		CORRETTO						SOSTITUITO						OMESSO						DISTORTO						
		Spontanea			Ripetuta			Spontanea			Ripetuta			Spontanea			Ripetuta			Spontanea			Ripetuta			
		Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	Ins	Insrt	Geo	
CONSONANTE	SORDA	p																								
		t																								
		k																								
		b																								
		d																								
FRICATIVE	SORDA	g																								
		f																								
		s																								
		z																								
		v																								
AFFRICATE	SORDA	ts																								
		tʃ																								
		dz																								
		dʒ																								
		l																								
NASALI	SORDA	ni																								
		ɲ																								
		l																								
		ʎ																								
		r																								
VOCALI	SORDA	a																								
		o																								
		u																								
		e																								
		i																								
SORDA	SORDA	w																								
		j																								

Tab.II - Tabella di valutazione del bilancio fonetico elaborata da F. Fanzago e U. Bortolini

Il bilancio fonetico è stato effettuato con le protesi in bocca e l'analisi spettrografica con e senza le protesi in bocca.

3. Risultati

- Pz n° 1: bambino di 6 anni, con diagnosi di E.D.s., riabilitato protesicamente da 3 anni con protesi mobili parziali superiore e inferiore. Presenta in arcata i quattro primi molari decidui, utilizzati per l'ancoraggio delle protesi.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 8 errori: distorsione di 3 consonanti fricative s,f,z, distorsione di 2 consonanti affricate ts,dz, distorsione delle consonanti laterali l, ʎ, omissione della r.

L'analisi degli spettrogrammi ha evidenziato, con le protesi inserite, una migliore definizione delle formanti e una emissione del suono più precisa in tutte le parole pronunciate.

- Pz n° 2: bambino di 7 anni con diagnosi di E.D.s., riabilitato protesicamente da 1 anno con protesi mobili parziale superiore e completa inferiore. Presenta nell'arcata superiore quattro incisivi conoidi.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 2 errori: distorsione di 2 consonanti affricate tf,dz.

L'analisi degli spettrogrammi ha evidenziato una migliore definizione delle formanti con le protesi inserite nella pronuncia di *casa*, *cassa* e *giraffa* e senza protesi nella pronuncia di *vaso*, *cava*, *pizza* e *zucca* (**Fig.6, Fig.7**).

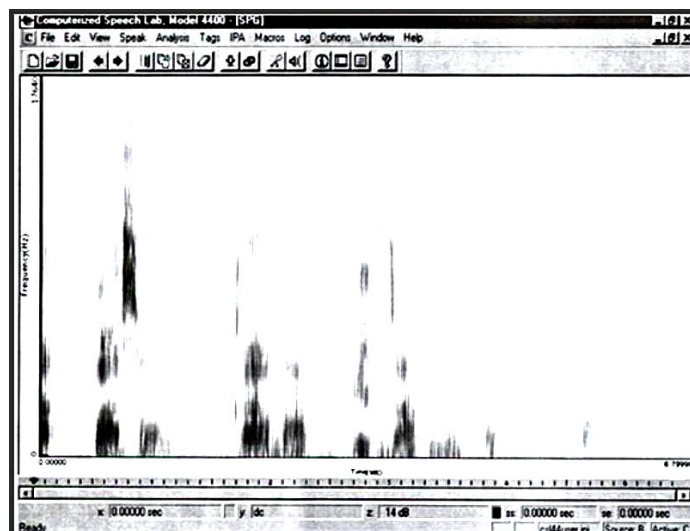


Fig.6- Analisi spettrografica del paziente N° 2 senza protesi durante la pronuncia delle parole: vaso, cava, pizza, zucca

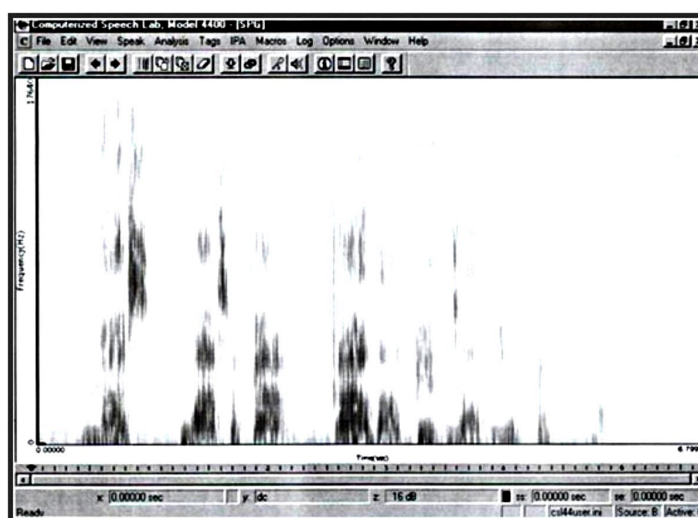


Fig.7- Analisi spettrografica del paziente n° 2 con le protesi durante la pronuncia delle parole: vaso, cava, pizza, zucca

- Pz n° 3: bambino di 8 anni con diagnosi di E.D.s., riabilitato protesicamente da 5 anni con protesi totali superiore e inferiore.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 2 errori: distorsione di 2 consonanti affricate *ts,dz*.

L'analisi degli spettrogrammi ha evidenziato una migliore definizione delle formanti del suono con le protesi inserite, tranne che per due parole (*afa* e *zucca*), la cui pronuncia è stata identica con o senza protesi.

- Pz n° 4: ragazzo di 14 anni con diagnosi di E.D.s., riabilitato protesicamente da 11 anni e 6 mesi con protesi mobili parziale superiore e completa inferiore. Presenta nell'arcata superiore i due

canini di forma conoide, ricostruiti per motivi estetici con restauri diretti in materiale composito, utilizzati per l'ancoraggio della protesi superiore.

Il bilancio fonetico non ha evidenziato errori di pronuncia.

L'analisi degli spettrogrammi ha evidenziato con le protesi inserite una migliore definizione delle formanti e una emissione del suono più precisa in tutte le parole pronunciate.

- Pz n° 5: bambino di 6 anni con diagnosi di E.D.s, riabilitato protesicamente da 40 gg, con protesi mobili parziale superiore e completa inferiore. Presenta in arcata i primi molari decidui superiori, utilizzati per l'ancoraggio della protesi superiore.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 6 errori: distorsione di 3 consonanti fricative *s, f, v* con un sigmatismo molto pronunciato e distorsione delle affricate *ts, tf, dz*.

L'analisi spettrografica ha evidenziato una migliore definizione delle formanti senza protesi inserite.

- Pz n° 6: bambino di 6 anni con diagnosi di E.D.s, riabilitato con protesi mobile parziale superiore consegnata il giorno stesso del test (secondo le linee guida utilizzate nella riabilitazione protesica, la protesi inferiore viene consegnata dopo 2-3 mesi per consentire al bambino un adattamento graduale). Presenta nell'arcata superiore, nel primo quadrante, un incisivo laterale e un canino di forma conoide, utilizzati per l'ancoraggio della protesi.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 11 errori: distorsione di 4 consonanti fricative *s, f, v, z*, distorsione delle affricate *ts, tf, dz*, della nasale *ŋ* e delle laterali *l, λ*.

L'analisi spettrografica ha evidenziato una migliore definizione delle formanti senza protesi inserita.

- Pz n° 7: bambino di 3 anni e mezzo con diagnosi di EDs, riabilitato con protesi totale superiore e inferiore da 1 anno e 6 mesi. Non sono presenti elementi in arcata.

Il bilancio fonetico ha evidenziato 9 errori: distorsione delle consonanti fricative *f, s, z* distorsione delle affricate *t, f, dz dʒ* e della nasale *m*, sostituzione della fricativa *f* con l'affricata *tf* e omissione della *r*.

L'analisi spettrografica ha evidenziato una scarsa definizione delle formanti con e senza protesi inserite.

Pz	Età	Denti erotti	Tempo intercorso dall'inizio della riabilitazione protesica	Articolazione e n° di errori
----	-----	--------------	-------------------------------------------------------------	------------------------------

1	6	55,65,75,85	3 aa	8 errori Distorsione delle affricate ts,dz Distorsione delle fricative s,f,z Distorsione delle laterali l,λ Omissione della r
2	7	11,12,21,22 (conoidi)	1 aa	2 errori Distorsione delle affricate tf,dz
3	8	nessuno	5 aa	2 errori Distorsione delle affricate ts dz
4	14	13,23 (conoidi ricostruiti)	11 aa, 6 m	Nessun errore
5	6	55,65	40 gg	6 errori Distorsione delle affricate ts,tf,d3 e delle fricative s,f,v
6	6	52,53	0 gg	11 errori Distorsione di tutte le affricate ts,tf,dz,d3 delle fricative s,f,v,z della nasale η delle laterali l,λ
7	3 a, 6 m	Nessuno	1 aa, 6 m	9 errori

Tab.III - Valutazione dell'articolazione con le protesi inserite

4. Discussione

I dati relativi al bilancio fonetico evidenziano che l'articolazione dei fonemi è influenzata dal tempo trascorso dall'inizio della riabilitazione protesica. Il paziente riabilitato protesicamente da 11 anni e 6 mesi (n° 4) e quello riabilitato da 5 anni (n° 3) hanno commesso rispettivamente zero e due errori. Al contrario i pazienti riabilitati da poco tempo (n° 6 e 7) hanno commesso rispettivamente 11 e 9 errori. Le consonanti difficili da pronunciare sono risultate più frequentemente le affricate dento-alveolari *ts* e *dz* (in 6 bambini su 7), le palato-alveolari *tf* e *d3* (in 4 bambini su 7) e le fricative (in 4 bambini su 7), in particolare la *s*, la *f* e la *v* (in 3 bambini su 7). Le distorsioni più frequenti a breve termine dalla consegna delle protesi sono quindi distorsioni da impatto, probabilmente causate dal contenimento della lingua esercitato dalle protesi.

Si può ipotizzare che la capacità di articolazione dei fonemi abbia inizialmente una diminuzione e nel tempo un miglioramento per l'adattamento delle strutture del cavo orale ai limiti imposti dalle protesi. Secondo questa ipotesi sarebbe necessario un periodo di tempo per la riorganizzazione degli schemi neuro-muscolari. Di conseguenza, una riabilitazione protesica precoce (verso i 2 anni) garantirebbe al bambino una miglior articolazione del suono al momento dell'inserimento scolastico.

Per quanto riguarda i dati relativi all'esame spettrografico, quattro dei sette bambini hanno dimostrato un miglioramento delle formanti con le protesi; tutti questi bambini erano riabilitati da più di un anno. In un paziente, riabilitato da 1 anno e 6 mesi, non si è evidenziata nessuna modificazione della pronuncia con e senza protesi. I due pazienti che hanno dimostrato un peggioramento delle formanti con le protesi erano riabilitati da un periodo di tempo molto breve (rispettivamente 40 giorni e poche ore).

Si può ipotizzare che la mancanza degli elementi dentali imponga la formazione di schemi sostitutivi e che l'inserimento delle protesi richieda un periodo di adattamento alla nuova situazione. Non è possibile stabilire l'entità delle modifiche indotte dalla riabilitazione protesica a livello centrale, ma si può ipotizzare che una riabilitazione capace di indurre schemi neuro-muscolari periferici corretti possa favorire la fisiologica maturazione dei corrispettivi schemi centrali. Uno schema periferico non corretto influenzerebbe invece negativamente sviluppo e maturazione degli schemi centrali, ostacolando la corretta articolazione della parola.

I dati raccolti evidenziano come i bambini riabilitati protesicamente, soprattutto nelle fasi iniziali, presentino problemi nell'articolazione della parola e necessiterebbero di trattamento logopedico nell'obiettivo di facilitare l'adattamento alla nuova condizione orale, la formazione di schemi neuro-muscolari corretti e l'accettazione delle protesi.

Lo scarso numero di pazienti presi in esame a causa della rarità della patologia non ha permesso di effettuare un'analisi statistica; per trarre conclusioni definitive sulla la funzione fonatoria in pazienti con oligo-anodonzia riabilitati protesicamente sarebbe quindi necessario ampliare il campione in esame.

5. Conclusioni

L'analisi della letteratura evidenzia l'assenza di dati relativi alla funzione fonatoria in soggetti in età evolutiva con oligo-anodonzia riabilitati protesicamente. Dallo studio condotto emerge una elevata incidenza di dislalie, in particolare nel periodo immediatamente successivo all'inserimento delle protesi.

La riabilitazione del cavo orale di questi bambini rappresenta un compito complesso che necessita di un approccio olistico, con particolare considerazione per le problematiche psicologiche che affliggono il bambino e la sua famiglia. In particolare, gli errori di pronuncia sono responsabili di difficoltà di comunicazione, potenziali cause di isolamento, di compromissione dell'autostima e di

alterazione dello sviluppo della personalità. Di qui la necessità di una riabilitazione protesica precoce seguita da un trattamento logopedico per permettere l'instaurarsi di schemi neuro-muscolari periferici corretti e la maturazione dei corrispettivi schemi a livello centrale.

Bibliografia

1. Priolo M, Laganà C. Ectodermal dysplasias: a new clinical-genetic classification. *J Med Genet* 2001; 38:579-585.
2. Nordgarden H, Jensen JL, Storhaug K. Oligodontia is associated with extra oral ectodermal symptoms and low whole salivary flow rates. *Oral Dis* 2001; 7: 226-232.
3. Priolo M, Silengo M, Lerone M, Ravazzolo R. Ectodermal Dysplasias : not only skin deep. *Clin Genet* 2000; 58: 415-430.
4. Pinheiro M, Freire-Maia N. Ectodermal Dysplasias: a Clinical Classification and a Causal Review. *Am J Med Genetics* 1994; 53: 153-162.
5. Motil KJ, Fete JT, Fraley JK, Schultz RJ, Foy TM, Ochs U, Sybert VP. Growth characteristics of children with ectodermal dysplasia syndromes. *Pediatrics*. 2005; 116: 229-34.
6. Mehta U, Brunworth J, Fete FJ, Sindwani R. Head and neck manifestation and quality of life of patient with ectodermal dysplasia. *Otolaryngology-Head and Neck Surg* 2007; 136:843-847.
7. Battelli F, Cetrullo N, Cocchi S, Carboni C, Piana G. La riabilitazione protesica di un caso di Displasia Ectodermica Anidrotica (HED). *Quintessenza internazionale* 2007; 23: 41-49.
8. D'Alessandro G, Tagariello T, Monari E, Battelli F, Bernardi F, Piana G. Guidelines for dental treatment in genetic diseases. *Dental Cadmos* 2005; 9: 1-25.
9. Norgarden H, Storhaug K, Lynstadaas SP, jense JL. Salivary glan function in persons with ectodermal dysplasia. *Eur J Oral Sci* 2003; 111: 371-376.
10. Mikkola ML, Thesleff I.. Ectodysplasin signalling in development. *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14:211-224.
11. Nomura S, Hasegawa S, Noda T, Ishioka K. Longitudinal study of jaw growth and prosthetic management in a patient with ectodermal dysplasia and anodontia. *Int J Paediatr Dent* 1993; 3: 29-38.
12. Hummel P, Guddack P. Psychosocial stress and adaptive functioning in children and adolescents suffering from hypohidrotic eectodermal dysplasia. *Pediatr Dermatol* 1997;14:189-5.
13. Farrington FH. The team approach to the management of ectodermal dysplasia. *Birth Defects* 1998; 24: 237-42.

14. Mann VA, Foy JG. Speech development patterns and phonological awareness in preschool children. *Ann Dyslexia*. 2007; 57: 51-74. Epub 2007 May 24.
15. Runte C, Lawerino M, Dirksen D, Bollman F, Lamprecht-Dinnesen A, Seifert E. The influence of maxillary central incisor position in complete dentures on /s/ sound production. *J Prosthet Dent* 2001; 85: 485-95.
16. Preti G, Pera P, Scotti R. Phonetic problem in the prosthetic rehabilitation of the edentulous patient. *Min Stomatologica* 1981; 30: 561-66.
17. Runte C, Tawana D, Dirksen D, Runte B, Lamprecht-Dinnesen A, Bollmann F, Seifert E, Danesh G. Spectral analysis of /s/ sound with changing angulation of the maxillary central incisors. *Int J Prosthodont*. 2002; 15: 254-8.
18. Jindra P, Eber M, Pesak J. The spectral analysis of sillabes in patients using dentures. *Biomed papers* 2002; 146: 91-94.
19. Wermke K, Mende W, Manfredi C, Brusciaglioni P. Developmental aspects of infant's cry melody and formants. *Med Eng Phys*. 2002; 24: 501-14.
20. Moeller MP, Hoover B, Putman C, Arbataitis K, Bohnenkamp G, Peterson B, Wood S, Lewis D, Pittman A, Stelmachowicz P. Vocalizations of infants with hearing loss compared with infants with normal hearing: Part I--phonetic development. *Ear Hear* 2007; 28: 605-27.